

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## ACTION DE LA CHALEUR SUR LES LEVURES

PAR M. E. KAYSER,

Chimiste au laboratoire des fermentations de l'Institut agronomique.

---

Tous les savants qui étudient les espèces bactériennes se sont préoccupés de savoir quel est leur degré de résistance à l'action de la chaleur, à quelle température elles périssent à l'état végétatif ou à l'état de spores. Au point de vue scientifique, on trouve dans cette recherche des moyens de caractériser diverses espèces, ou au moins de les distinguer les unes des autres ; au point de vue pratique, on y trouve le moyen de les isoler, de séparer par exemple dans un mélange celle qui peut supporter sans périr la température la plus élevée. C'est ainsi, par exemple, qu'on retire le *bacillus subtilis* de l'infusion de foin. L'hygiène tire à son tour profit de ces notions pour savoir à quelle température il faut porter les objets qu'on veut stériliser pour les débarrasser de tout germe de microbe, et il est superflu de rappeler ici toutes les récentes conquêtes de la science à ce sujet, les différences, par exemple, que présentent, à ce point de vue, le chauffage à l'état sec et le chauffage à l'état humide.

Cependant, quand on envisage cette question d'un peu près, on se convainc bien vite que tout y est encore un peu incertain et contingent. Les divers observateurs ne s'accordent pas toujours entre eux, même lorsqu'ils paraissent avoir fait leurs expériences

dans les mêmes conditions, s'être servis, par exemple, des mêmes liquides qu'ils ont chauffés pendant le même temps. Une partie des différences observées vient sûrement de ce que, sous ces apparences d'uniformité de température ou de durée de chauffage, il y a place pour des variations notables dans l'action de la chaleur. Ce sont évidemment les températures les plus élevées, voisines de la température limite, qui sont les plus actives, et celles-ci, l'essai soumis au chauffage ne les subit pas nécessairement pendant le même temps. Suivant que le volume de la liqueur d'essai est plus ou moins grand par rapport à celui du bain où on la plonge, qu'elle est contenue dans un verre plus ou moins grand ou plus ou moins épais, que l'évaporation est plus ou moins facile à sa surface, qu'elle est plus gélatineuse ou plus fluide, qu'elle renferme ou non des zooglyphes dont tous les points ne subissent pas la même impression, elle peut être plus ou moins longtemps exposée à l'action des températures extrêmes, et l'effet *physiologique* total peut varier beaucoup.

Encore nous sommes-nous supposés ici dans les meilleures conditions d'un chauffage régulier. On peut à la rigueur suivre, noter de moment en moment, et apprécier assez exactement la température d'un liquide chauffé; mais quand on opère à sec, quand on cherche par exemple le degré de résistance à la chaleur d'une poussière de germes, les chances d'indécision dans les expériences et d'incertitude dans les résultats augmentent beaucoup. Qu'est-ce que la température d'un corps sec d'aussi faible volume? Qu'est-ce que la température d'une spore isolée en un point de la paroi? On ne le sait, et pourtant il suffira peut-être de cette seule spore, restée vivante par suite d'une circonstance quelconque, pour peupler le liquide dans lequel on fera l'ensemencement pour savoir s'il y a encore quelque chose de vivant. Si pour échapper à cette cause d'erreur, on emploie la méthode des cultures sur gélatine, on en rencontre une autre plus grave, c'est que beaucoup de microbes, affaiblis sinon tués par le chauffage, refusent de se développer sur la gélatine, alors qu'ils peuplent facilement un bon liquide nutritif.

Aussi ai-je cru qu'il n'était pas inutile de reprendre la question, non pas pour la renouveler, car il est clair que, même avec les causes d'erreur que nous venons d'énumérer, nous connaissons les lignes générales du problème, mais pour essayer, en préci-



sant davantage les conditions du chauffage, de mettre en évidence certaines influences restées dans l'ombre jusqu'ici.

Travaillant dans un laboratoire voué à l'étude des fermentations alcooliques, j'ai naturellement pris comme sujet d'étude les levures, au sujet desquelles la science ne possède du reste que quelques résultats encore plus contradictoires et plus incertains que pour beaucoup d'autres microbes. C'est ainsi que Hoffmann<sup>1</sup> place entre 76° et 83° la température à laquelle périt la levure chauffée à l'état humide. Wiessner<sup>2</sup> la fixe à 66°, 5 quand la levure est fraîche, à 2 ou 3 degrés plus haut, quand on l'a laissée pendant quelques jours s'épuiser dans l'eau. M<sup>me</sup> Manassein<sup>3</sup>, qui a travaillé dans le laboratoire de M. Wiessner, indique comme mortel un chauffage d'un quart d'heure à 70-72°. En regard de ces chiffres élevés, on trouve dans un mémoire de M. Duclaux *sur la durée de la vie chez les germes des microbes*<sup>4</sup> des évaluations beaucoup plus modestes, car l'action d'une température de 38° sur de la levure l'a tuée au bout de 48 heures. La levure était vieille, il est vrai, ou du moins était le résultat du rajeunissement récent de la levure vieille, et nous verrons bientôt que cela peut avoir de l'influence, mais il n'en reste pas moins des dissemblances notables entre ces divers résultats.

Avec la levure chauffée à l'état sec, ces dissemblances sont encore plus grandes. La pratique courante des laboratoires nous prouve qu'il n'y a plus rien de vivant dans un vase dont les parois ont été portés à 180°, et cependant la levure peut résister à 215° d'après M. Hoffmann, et même à 258°, d'après M<sup>me</sup> Manassein, sans périr.

Je ne m'attarderai pas à rechercher les diverses causes d'erreur qui ont pu intervenir dans ces expériences, et dont la principale est, sans doute, la difficulté d'évaluer les températures réelles des divers globules de levures. Je veux dire seulement les précautions que j'ai prises pour me mettre à l'abri de celles de ces causes d'erreur que j'ai pu deviner. Quant aux autres, je dirai, une fois pour toutes, que mes expériences ont toujours été comparatives, et que j'ai fait tout mon possible pour que si une cause d'erreur est

1. Sur l'histoire naturelle de la levure. *Bot. Untersuch. et Bot. Zeitung*, 1869.

2. *Mikroskop. Untersuch.* Stuttgart, 1872.

3. Contributions à la connaissance de la levure. *Id.*, 1871.

4. *Ann. de ch. et de phys.* 6<sup>e</sup> S., t. V, 1885.



intervenue dans un de mes essais, elle fut la même pour les autres essais de la même série. Je crois donc que les nombres qu'on trouvera plus bas sont bien comparables les uns avec les autres.

Le premier point à viser était de n'opérer qu'avec des espèces pures, pour se mettre à l'abri des différences que peuvent éventuellement présenter les diverses levures vis-à-vis de l'action de la chaleur. Pour cela j'ai recherché dans la *pale ale* de Bass et C<sup>ie</sup>, et dans les bières de l'*Augustinerbraü*, du *Hofbraü*, et du *Spatenbraü* de Munich, les levures caractéristiques de ces bières, et je me suis assuré que ces levures donnaient aux moûts qu'elles faisaient fermenter les qualités physiques, chimiques, et organoleptiques de la bière mère. J'ai ajouté à ces levures une levure de vin de Saint-Emilion, qui m'a été donnée par M. Reclus, et un *Saccharomyces Pastorianus* tout à fait authentique, attendu qu'il provenait d'un ballon ensemencé en 1873, par M. Pasteur lui-même, au moment où il s'occupait de cette levure, et sous le nom qu'il lui donnait alors. La pureté de cette levure a tout récemment été démontrée par M. Duclaux<sup>1</sup>.

Venait ensuite la question du mode de chauffage. Pour le chauffage à l'état humide, je me suis servi de tubes à essai assez étroits, effilés en outre à leur partie inférieure, de façon à s'allonger en un petit tube de 1 ou 2 millimètres de diamètre. Ces tubes, fermés par un tampon de coton et stérilisés à l'avance, recevaient dans leur effilure quelques gouttes du liquide à éprouver, et subissaient 5 minutes d'immersion dans un bain-marie, très volumineux par rapport à la petite quantité du liquide en expérience, et porté à des températures échelonnées de 5° en 5°. J'ai choisi cette durée de 5 minutes de façon à diminuer la cause d'erreur provenant des incertitudes de la première période du chauffage. L'effilure du tube rendait évidemment la communication de la chaleur très rapide, et l'inégalité possible de durée de la première période du chauffage avait d'autant moins d'importance que la durée totale du chauffage était plus longue. Sitôt les cinq minutes écoulées, on retirait les tubes et on les plongeait de suite dans l'eau froide.

Pour le chauffage à l'état sec j'ai suivi deux procédés diffé-

1. Voir ces *Annales*, t. III, p. 382.

rents : le premier consiste à puiser à l'aide de pipettes effilées et stériles quelques gouttes de la levure à essayer, et à les laisser couler au fond d'un tube flambé, fermé par un tampon de coton. La dessiccation se faisait ensuite soit à l'air libre, soit en présence d'acide sulfurique, ou encore en plongeant les tubes dans un bain-marie maintenu constamment entre 40 et 50°. D'autres fois les tubes étaient desséchés à l'étuve à une température de 22 à 25°. Après dessiccation complète, les tubes étaient portés pendant 5 minutes dans un bain de glycérine chauffé aux températures que je voulais essayer, retirés et plongés immédiatement dans l'eau à la température ordinaire.

Dans chacun de ces tubes on introduisait du moût stérile (eau de touraillons sucrée, neutre ou acide, eau de navets sucrée, eau de malt).

C'est là l'ancienne méthode suivie. Elle laissait à désirer et donnait lieu à une objection grave. On n'était nullement sûr, à cause de la mauvaise conductibilité du verre, que la température intérieure du tube fût celle indiquée par le thermomètre plongeant dans le bain de glycérine, ou dans l'intérieur du tube, et il pouvait parfaitement se faire que tel ou tel globule échappât à la température décisive pour l'expérience, et donnât lieu à une fermentation.

Ceci explique pourquoi les chiffres fournis par cette méthode se sont trouvés, en général, un peu supérieurs à ceux indiqués par une seconde méthode, où l'on est beaucoup plus sûr de la température.

Dans cette méthode, on stérilise, en la passant dans la flamme, une petite spirale de platine, suspendue à l'effilure d'une baguette de verre. On la plonge ensuite dans le matras Pasteur contenant la levure ou les spores à étudier, et on la fait tomber dans un tube fermé par un tampon de coton et stérilisé. La dessiccation se fait à l'air libre ou à l'étuve.

Pour le chauffage, on se sert encore du bain de glycérine. Dans ce bain plonge un petit tube en U analogue à celui qui sert à l'analyse du lait d'après la méthode de M. Duclaux.

La plus grosse branche du tube est fermée par un bouchon en caoutchouc à deux tubulures portant, l'une un thermomètre, et l'autre un tube recourbé, mis en communication avec une trompe à eau à faible débit. L'autre branche, beaucoup plus fine, servait



à un appel d'air qui se desséchait d'abord en passant dans un flacon à acide sulfurique, s'échauffait en descendant dans la branche mince de l'U et rencontrait en remontant une toile métallique sur laquelle reposait la spirale de platine chargée de semence. La conductibilité et la faible chaleur spécifique du platine assurait dans la mesure du possible l'égale répartition de la chaleur entre les cellules réparties sur la surface du fil, et l'égalité de température entre le fil et l'air.

Après 5 minutes de chauffage à une température maintenue aussi constante que possible par le jeu plus ou moins accéléré de la trompe, on retirait la spirale avec un fil de platine, et on l'immergeait immédiatement dans un liquide nutritif stérile, formé presque toujours d'eau de touraillons sucrée et neutre. Il ne reste plus qu'à examiner si le liquide ainsiensemencé se peuple ou reste stérile; mais il faut ne pas se hâter de conclure, car ce n'est quelquefois qu'après quelques jours que la levure finit par triompher de l'affaiblissement produit par l'action de la chaleur.

Cela posé, voici, brièvement résumés, les résultats de mes expériences sur les points que j'ai étudiés. Je n'en indiquerai que quelques-unes, car, autant par méfiance pour moi-même que pour les difficultés du sujet, je les ai beaucoup multipliées, et j'en ai fait plus d'un millier. Je n'ai accepté comme bonnes que celles qui se trouvaient concordantes dans plusieurs essais successifs.

### I. — *Chauffage à l'état humide.*

J'ai fait, dans les mêmes conditions, des essais de chauffage à l'état humide des levures à l'état de globules, prises de préférence à la fin de la fermentation dans des matras Pasteur, où le liquide sucré était en faible épaisseur, et des spores de ces mêmes levures, obtenues, par la méthode de M. Duclaux, en ensemençant de la levure jeune dans une solution de lactose additionnée de traces de bouillon Liebig et d'un peu de craie. Ces levures provenaient d'une culture dans l'eau de touraillons sucrée, ou de l'eau de navets sucrée, ou de l'eau de malt.

Dans les tableaux qui suivent, la lettre D indique qu'il y a eu développement. Deux fois répétée, elle dit que les deux matras sur lesquels on faisait chaque fois l'expérience se sont montrés

tous les deux féconds. Le signe — indique que l'un d'eux, ou tous les deux sont restés stériles.

	T.	45°	50°	55°	60°	65°
Levures . . .	Bass. . . . .	DD	DD	DD	DD	---
	St-Émilion . .	DD	DD	DD	---	---
	Augustinerbr .	DD	D—	---	---	---
	Hofbraü . . . .	DD	DD	---	---	---
	Spatenbraü . .	DD	DD	---	---	---
	Neunkirchen .	DD	DD	DD	DD	---
	Sacch. Past. .	DD	D—	---	---	---
Spores . . . .	Bass. . . . .	DD	DD	DD	DD	D—
	St-Émilion . .	DD	DD	DD	DD	---
	Augustinerbr .	DD	DD	DD	DD	---
	Spatenbraü . .	DD	DD	DD	---	---
	Sacch. Past. .	DD	DD	DD	---	---

On voit sur ce tableau que toutes les levures ne semblent pas avoir la même faculté de résistance à la chaleur. Les levures de bières de Munich paraissent sous ce point de vue être plus fragiles que la levure de l'ale anglaise, ou la levure de vin de Saint-Émilion. Il en est de même du *Sacch. Pastorianus*. Il faut noter que la majorité des levures peu résistantes à la chaleur est faite de levures basses. De nouveaux essais diront ce qu'il peut y avoir de général dans cette notion.

De plus, en majorité, les limites de résistance, trouvées dans ces essais, sont inférieures à celles qu'avaient fixées Hoffmann, Wiessner, et M<sup>me</sup> Manassein. J'attribue ce fait à ce que j'étais plus sûr de la température, car, dans les expériences antérieures, les durées du séjour à la chaleur ont été souvent plus grandes que dans mes expériences.

Quant aux spores, on voit que la température à laquelle elles peuvent résister dépasse presque partout de 5° celle à laquelle périssent les globules. La différence est même de 10° pour l'*Augustiner*. Ces différences sont inférieures à celles auxquelles on était en droit de s'attendre, d'après celles qu'on relève dans l'étude des bacilles et de leurs spores. Nous allons voir du reste tout à l'heure qu'elles sont plus grandes à l'état sec.

J'avais essayé de voir quelle est l'influence, sur le développement ou le non développement des levures ou de leurs spores,



du milieu où on les ensemeince après le chauffage. J'y étais encouragé par une observation de M. Duclaux, qui a vu (*loc. cit.*) que le liquide d'ensemencement doit être à peu près neutre. J'ai constaté l'exactitude de ce fait, mais, quant à mesurer par des nombres précis l'influence d'un excès d'acide, je n'y suis pas parvenu. Il arrive quelquefois, bien que rarement, qu'un milieu légèrement acidulé rajeunit aussi bien les levures qu'un liquide neutre. Avec des doses d'acide plus fortes, le rajeunissement est plus difficile, mais on superpose alors une action nouvelle à celle qu'on veut étudier, et je n'ai pas insisté.

## II. — Chauffage à l'état sec.

Au lieu de citer ici les très nombreuses séries d'expériences que j'ai faites sur ce sujet, je donnerai les limites de résistance observées pour ces levures dans différents essais, tous faits par la méthode des spirales de platine. Ces limites sont plus larges que dans les chauffages à l'état humide, parce que les incertitudes de température sont en somme plus grandes, et ce serait fausser la vérité que de supprimer arbitrairement les essais dans lesquels la résistance a été la plus faible. On ne peut même pas dire que les causes d'erreur dans l'évaluation de la température donnent plus de poids au chiffre supérieur qu'au chiffre inférieur, car rien n'assure que la température du fil de platine soit toujours inférieure ou toujours supérieure à celle de l'air dans laquelle plonge le thermomètre; il peut y avoir des surchauffes locales qui influencent le fil sans influencer d'une façon sensible le mercure de la boule thermométrique. Tout ce qu'on peut faire est de tâcher de serrer étroitement les limites, et de donner simplement les chiffres trouvés; c'est ce que je fais dans le tableau suivant.

	Levures.	Spores.
Bass . . . . .	95° — 105°	115° — 125°
St-Émilion . . . . .	105° — 110°	125°
Augustinerbr. . . . .	»	115° — 120°
Hofbraü . . . . .	85° — 90°	»
Spatenbraü. . . . .	100° — 105°	115°
Sacch. Past . . . . .	100° — 105°	115°

On voit que la résistance au chauffage à sec de ces diverses levures est très variable. L'*Augustiner* est même des plus fragiles;



non seulement elle ne supporte pas le moindre chauffage après dessiccation, mais elle ne résiste même pas quelquefois à la dessiccation à la température ordinaire. La levure de Hofbraü et de Spatenbraü sont aussi très peu résistantes, cependant elles le sont beaucoup plus qu'à l'état humide. La plus résistante est la levure de Saint-Émilion.

Les spores sont aussi très inégalement résistantes, sans que pourtant elles se rangent dans le même ordre que les levures correspondantes. Ainsi les spores de l'*Augustiner* sont très résistantes. Pourtant c'est encore celle de Saint-Émilion (levure haute) qui tient la tête. Pour elle la différence des températures mortelles pour la spore et le globule est de  $15^{\circ}$  à  $20^{\circ}$ . Il en est de même pour quelques autres; mais cette différence est beaucoup plus grande pour l'*Augustiner*. En somme, on voit que nous avons eu raison d'opérer sur des levures pures. Des mélanges comme ceux sur lesquels on a opéré jusqu'ici, nous auraient laissés dans une complète indécision.

Il est intéressant de mettre en présence de ces résultats ceux qu'on obtient par la première méthode de chauffage que j'ai décrite, et dans laquelle la dessiccation se faisait sur la paroi de tubes flambés. Dans la série A, la dessiccation est faite à la température ordinaire, dans une atmosphère desséchée par l'acide sulfurique. Dans la série B, elle a été faite à l'étuve à  $25^{\circ}$ - $30^{\circ}$ , et à  $40^{\circ}$ - $50^{\circ}$  dans la série C.

	Série A		Série B		Série C	
Températures. . . . .	$120^{\circ}$	$125^{\circ}$	$120^{\circ}$	$125^{\circ}$	$120^{\circ}$	$125^{\circ}$
Levures de Bass. . . . .	DD	DD	DD	D—	D—	—
Spores. . . . .	périssent au delà de $130^{\circ}$ , uniformément.					

On voit, en comparant ces résultats à ceux qui précèdent, que les différences sont assez sensibles en ce qui concerne les globules, et qu'elles sont bien dans le sens prévu, la température ayant été évaluée beaucoup plus haut dans la dessiccation sur les parois du tube qu'avec les spirales de platine. La différence est encore dans le même sens, mais moins grande pour les spores. On s'explique par là, en partie, les variations des nombres trouvés par les divers expérimentateurs, mais dans un cas comme dans l'autre, nous sommes très loin des chiffres donnés par Hoffmann et par M<sup>me</sup> Manassein.

On voit en outre par les résultats qui précèdent, et qui sont comparatifs entre eux, ce que montre du reste leur régularité, que la levure résiste d'autant mieux à la chaleur qu'elle a été desséchée à température plus basse. C'est ce qu'on savait déjà au sujet de divers animaux, par exemple des rotifères, mais ce qu'il est intéressant de retrouver pour les *saccharomyces*.

### III. — Influence de l'âge.

L'état de vieillesse de la levure a-t-il quelque influence sur son degré de résistance à la chaleur? c'est ce que j'ai été amené à soupçonner dans divers essais que je ne relaterai pas, parce que j'ai eu la bonne fortune de pouvoir étudier cette question sur une levure datant de 15 ans, le *Saccharomyces Pastorianus* dont j'ai parlé plus haut. Cette levure était encore vivante : il était facile de la rajeunir et de la comparer à la culture jeune, au point de vue de sa résistance à la chaleur. Voici les résultats de l'une des expériences faites, ils concordent avec tous les autres. La levure vieille avait été diluée dans de l'eau distillée stérile.

	45°	50°	55°	60°
Sacch. pastor. jeune. . . .	DD	D—	—	—
Id. id. vieux. . . .	DD	DD	DD	—

Ainsi la levure vieille supporte sans périr 5 à 10° de plus de chaleur que l'autre. Cette augmentation de résistance est graduelle. On en observe sporadiquement des cas en opérant sur des levures âgées de quelques mois, mais elle est lente, et il y a tout de suite à se demander d'où elle vient.

En constatant que la levure vieille a atteint le degré de résistance des spores de cette même levure, on pourrait penser qu'à force de vieillir dans son liquide nutritif, elle a fini par y donner des spores dont la résistance explique la sienne. Il est difficile de s'assurer de la réalité de cette explication par un simple examen microscopique. On voit, il est vrai, dans beaucoup de globules, des masses rondes ressemblant aux spores, mais qui sont souvent reconnaissables comme des granules gras, beaucoup plus abondants que dans une levure jeune. Ce sont ces matières grasses que M. Duclaux a étudiées récemment. En tenant compte de cette cause d'illusion, les globules à spores sont très rares, si



rares qu'ils passent souvent inaperçus. Un examen microscopique soigneux permet pourtant d'ordinaire d'en reconnaître, et, comme il suffirait à la rigueur qu'il n'y en eût qu'un pour peupler le liquide d'ensemencement, on resterait perplexe si l'on ne trouvait pas un argument dans les résultats du chauffage à sec.

Les spores résistent, nous l'avons vu, assez fortement à ce mode de chauffage : or la levure vieille meurt par simple dessiccation à l'air libre, tandis que la levure jeune résiste à 100-105°, comme nous l'avons vu, et ses spores de 110° à 115°.

L'état de vieillesse diminue donc le degré de résistance à sec. J'ai trouvé un effet analogue avec les spores. Des spores jeunes de la levure de Bass se développent encore après un chauffage à sec à 120°, parfois même après un chauffage à 125°. J'ai vu au contraire des spores âgées de 8 mois ne jamais résister au delà de 115°. De nouveaux essais, faits de loin en loin, me diront si cette diminution de résistance est continue et régulière.

#### IV. — *Influence de l'origine.*

J'arrive enfin à un point plus délicat, l'étude des influences héréditaires. Il est admis de tous, bien que la démonstration n'en ait pas encore été donnée, au moins à ma connaissance, que la levure qui provient du développement des spores est identique à la levure qui a fourni les spores, absolument comme l'être qui sort d'un œuf est identique à celui qui l'a produit. Avant d'entrer dans l'examen de cette question, qui ne me semble pas résolue d'avance, j'ai voulu comparer entre elles les levures qui avaient fourni des spores et celles qu'on obtenait par réensemencement des mêmes spores portées à la température la plus haute qu'elles puissent supporter. J'ai même fait de nouvelles spores avec les levures de seconde génération ainsi obtenues par un premier passage à travers la spore chauffée, et j'ai comparé entre eux, et les uns avec les autres, ces deux lots de levures et ces deux lots de spores. Les résultats obtenus ont été assez variables suivant le mode de chauffage.

Prenons d'abord le chauffage à l'état humide. Avec la levure d'*Augustiner* et de *Spatenbrau*, je n'ai pu relever aucune différence constante entre les levures normales et celles qui provenaient de

la revivification de spores chauffées à 116°. Ces levures périssent vers 50° et leurs spores vers 55°. Une levure de Saint-Emilion, provenant de spores ayant résisté à 120°, a résisté à plusieurs reprises à 60°, tandis que la levure normale meurt à 55°. Mais quand on a ramené à l'état de spores, cette levure provenant de spores chauffées, on a vu que la résistance de ces spores n'était pas supérieure à celle des spores normales. Même résultat pour la levure de Bass, revivifiée de spores ayant résisté à 130°, et qui a pu résister à 65°, tandis que ses spores retombaient au degré de résistance des spores normales.

Pour le *Saccharomyces pastorianus* il y a une augmentation de 5° dans la résistance, tant des levures régénérées de spores chauffées que dans les spores provenant de ces levures.

Ainsi, pour quelques-unes de ces levures, les globules provenant de spores chauffées se sont montrés un peu plus résistants que les globules normaux, mais cette résistance ne se perpétuait pas dans la spore. Elle ne se perpétuait pas non plus dans les globules de seconde génération provenant d'un ensemencement direct, dans du moût de bière, des globules plus résistants provenant des spores chauffées.

On s'explique assez bien qu'il en soit ainsi. Il y a, quand la fermentation est terminée, dans le matras où on a ensemencé les spores chauffées, plusieurs générations de globules dont les premières doivent sans doute à leurs ascendants directs une certaine adaptation aux effets de la chaleur, mais dont les dernières, de même que celles qui en proviennent par un ensemencement nouveau, n'ont plus aucun souvenir du traitement auquel leurs ascendants éloignés ont été soumis. En somme, dans les diverses générations d'une même culture, comme dans les cultures successives d'une même semence, l'impression de la chaleur est fugitive, bien qu'elle existe, et elle est bientôt effacée.

Arrivons maintenant, pour terminer, au chauffage à l'état sec. Ici les résultats sont plus marqués, bien qu'analogues à ceux qui précèdent.

Nous avons vu la levure de Bass résister jusqu'à 95°-105°, et ses spores jusqu'à 115°-125°. Cette même levure, après passage par des spores ayant résisté à 130°, a pu supporter impunément un chauffage à 110°-115°, et ses spores résister à 125°.

La levure de Saint-Emilion périt entre 105° et 110°, et ses



spores à 125°. Après passage par des spores chauffées à 125°, la levure a pu supporter un chauffage à sec à 115°, ses spores continuant à périr à 125°.

L'*Augustiner* est plus curieuse. A l'état normal, nous savons que cette levure ne peut guère supporter la dessiccation sans périr. Après passage au travers de spores ayant résisté à 116°, la levure rajeunie supporte, au contraire, assez facilement la dessiccation et le chauffage à sec, attendu qu'elle ne périt qu'entre 85-90°. Je me suis bien assuré, par des comparaisons répétées, que ce résultat singulier n'était pas dû au mélange, avec la levure d'*Augustiner*, d'une autre levure en petite quantité qui aurait résisté après la mort de l'*Augustiner*, et se serait seule développée après chauffage à sec. Les spores de cette levure régénérée d'*Augustiner* meurent à 125°.

On voit, en résumé, qu'au point de vue de l'action de la chaleur, il est difficile d'imprimer sur ces levures, depuis longtemps arrivées à l'état fixe comme races, de nouvelles influences héréditaires durables. En serait-il de même pour les milliers de levures, vagabondes comme habitat, qu'on trouve dans la nature? Ne se prêteraient-elles pas mieux à une éducation dans un sens déterminé? C'est une question trop importante pour que je songe à l'aborder ici. J'espère pouvoir l'étudier bientôt.

---

# SUR LES FORMES MIXTES DE LA TUBERCULOSE DES ARTICULATIONS

PAR LE D<sup>r</sup> A. D. PAWLOWSKY.

Professeur de pathologie chirurgicale à l'Université de Kiew.

---

Chez les malades atteints de maladies infectieuses générales dont l'étiologie est aujourd'hui bien connue, on a souvent l'occasion d'observer des complications qui viennent s'ajouter à la maladie principale. Tels sont les accidents locaux qui sont dus à ce que le virus se cultive dans un tissu ou dans un organe qu'il n'envahit pas d'ordinaire, ou encore à ce qu'un autre virus est entré dans l'organisme grâce aux lésions causées par le premier. D'autres fois les complications ont pour cause la pénétration simultanée dans le corps de microbes pathogènes différents, qui évoluent en même temps, en produisant une infection mixte dont les symptômes diffèrent de ceux des deux infections séparées.

Ces formes mixtes des maladies infectieuses ont d'abord été étudiées en médecine. Il nous suffira de rappeler qu'en 1864 le professeur Botkine faisait une analyse précise du typhus abdominal compliqué de typhus récurrent, de typhus exanthématique ou de fièvre intermittente. Une complication bien connue de la scarlatine est la diphtérie qui survient souvent dans le cours de cette fièvre éruptive. Les infections mixtes sont fréquentes aussi en chirurgie, et Pirogoff, par exemple, a pu décrire toute une série de pyémies complexes, et distinguer jusqu'à 7 catégories de septicémies. Toutes ces formes diverses existaient du temps de Pirogoff et il est évident qu'elles avaient pour cause la pénétration de plusieurs microbes dans l'organisme du malade <sup>1</sup>.

1. Pirogoff. *Natchala obstchei woennopolewoi chirurgii*. Dresden, 1863, p. 244-275 et 443-444.



Aujourd'hui, grâce à l'antisepsie, ces affections compliquées ont disparu et il est probable que nous ne les reverrons plus. Cependant les chirurgiens actuels ont encore à lutter contre des infections mixtes; dans certains cas de syphilis, on observe une fièvre rapide qui n'est pas causée par le virus syphilitique, mais bien par un virus surajouté, et dont l'action, jointe à celle du premier, donne lieu à des phénomènes d'une gravité particulière. De même, les cystites, les périmétrites, les pyélonéphrites qui suivent les blennorrhagies, sont le plus souvent dues à l'action des microbes étrangers qui ont pullulé à la suite du gonocoque.

L'étiologie de ces infections mixtes, c'est-à-dire l'étude des microbes qui les causent, est très intéressante, mais n'est que commencée. Dès 1884, M. Koch <sup>1</sup> a montré que dans les poumons tuberculeux le bacille spécifique est souvent mélangé de microbes étrangers. Rosembach <sup>2</sup> a trouvé dans la pyémie des streptocoques associés à des staphylocoques. MM. Kossowitch <sup>3</sup>, Hochsinger, Chosten <sup>4</sup>, D'outrelepont <sup>5</sup> ont rencontré des streptocoques chez les enfants syphilitiques qui succombent avec une fièvre aigüe. M. Bumm <sup>6</sup> attribue à la pénétration de microbes pyogènes les abcès, les cystites, les parotidites, les périmétrites que l'on observe après l'urétrite : ce sont, pour lui des infections mixtes.

Dans les affections tuberculeuses des articulations, les chirurgiens ont souvent affaire à des infections mixtes. Les synovites tuberculeuses qui s'accompagnent de fièvre violente, de gonflement des parties environnantes, de fistules avec suppuration, sont de ce nombre. En 1887, lorsque j'étais à Paris au laboratoire de M. Pasteur, j'ai eu l'occasion d'examiner des fongosités articulaires enlevées dans les services de MM. Lannelongue, Lucas-Championnière et Péan. Dans un cas je rencontrai dans ces masses

1. Koch. *Über die Ätiologie d. Tuberculose. Mitth. aus K. Gesundheitsamte*, Bd. II, 1884.

2. Rosembach. *Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen*. Wiesbaden, 1884.

3. Kossowitch. *Wien. med. Blätter*, IX, 1886, 1, 2, 3.

4. Chosten. *Tageblatt des 59 Versamml. deutschen Naturfors. und Aerzte*, p. 293, et *Vierteiljahrsschr. für Dermat. und Syph.*, 1887, 1, p. 109.

5. D'outrelepont. *Centralbt. für bacteriol.*, 1887, II Bd., 13, 369.

6. Bumm. *60 Versamml. deutsch. Naturforscher u. Aerzte in Wiesbaden*. Ueber die gonorrhoeische mischinfektionen beim Weibe.

rongueuses non seulement des bacilles tuberculeux, mais aussi des streptocoques. L'inoculation d'un peu de ces fongosités, pratiquée dans l'articulation du genou sur deux lapins, amena des synovites fongueuses, avec suppuration abondante et gonflement des articulations. En ensemençant un peu des produits des articulations malades, on obtenait une culture de streptocoques. Onze jours après le début de l'expérience, un lapin fut sacrifié par le chloroforme, et nous pûmes constater sur la synoviale des masses fongueuses contenant des streptocoques. Le second lapin fut sacrifié le seizième jour ; son articulation renfermait le même microbe.

A l'examen de granulations fongueuses qui provenaient d'une articulation tuberculeuse (cas de récédive après résection du coude), nous avons trouvé, outre de rares bacilles tuberculeux, un autre bacille à bouts arrondis, beaucoup plus abondant, qu'il fut facile d'obtenir à l'état de pureté en faisant des ensemencements sur sérum. Des lapins inoculés avec ces cultures pures succombèrent, après onze et quinze jours, à une infection généralisée. Les organes internes renfermaient le microbe inoculé. Ces exemples montrent que dans les fongosités articulaires, il existe parfois d'autres microbes pathogènes associés aux bacilles tuberculeux. Ces tuberculoses articulaires étaient donc des infections mixtes.

De retour en Russie, j'ai pu observer des cas analogues. Pendant l'automne de 1888, à la clinique de mon cher maître le défunt professeur Bogdanowsky, j'ai vu des tuberculoses articulaires avec fistules et destruction des tissus environnants. Les malades étaient dans un état d'affaiblissement général, et ils présentaient une fièvre continue avec exacerbations. Dans le premier de ces cas, l'articulation du genou avait d'abord été atteinte et s'était guérie avec une attitude vicieuse du membre ; plus tard les deux articulations tibio-tarsiennes furent prises à leur tour. Dans le second cas, la tuberculose avait récidivé après résection du genou ; le troisième tout à fait semblable au précédent se termina par la mort. Une autrefois la tuberculose siégeait à l'articulation de l'épaule et récidiva après un grattage. J'ai pu recueillir quatre autres observations semblables, et dans ces huit cas les granulations fongueuses ont été examinées au microscope et ensemencées sur des milieux nutritifs ; deux fois on fit en



outre des cultures avec le pus des fistules. En procédant ainsi, outre le bacille de la tuberculose, j'ai trouvé 3 fois le *streptococcus pyogenes*, 1 fois le *staphylococcus aureus* et une fois le *bacillus pyocyaneus*.

Avec ces divers microbes je fis les expériences suivantes. A un premier lapin j'injectai, dans l'articulation du genou, une culture pure de tuberculose; à un second une culture de tuberculose mélangée à du *staphylococcus aureus*; à un troisième le bacille tuberculeux associé au *streptococcus pyogenes*; et enfin à un quatrième lapin du bacille pyocyanique mêlé à celui de la tuberculose.

Le lapin qui devint le plus rapidement malade fut celui qui avait reçu les bacilles tuberculeux et pyocyaniques. Dès le 12<sup>e</sup> jour il avait succombé, et à l'autopsie on trouva de la suppuration dans l'articulation, et des tubercules gris disséminés dans les poumons. Le pus de l'articulation contenait du bacille pyocyanique.

Chez le second lapin (tuberculose et staphylococcus), l'articulation avait le neuvième jour le volume d'une noix, et au bout d'un mois celui d'une grosse pomme. Il mourut après 52 jours, l'articulation était remplie de pus et de masses caséuses.

Le troisième animal (tuberculose et streptococcus) eut une tuberculose de l'articulation avec généralisation aux poumons, aux reins.

Le lapin de contrôle, qui avait reçu dans l'articulation la culture pure de tuberculose, succomba après trois mois et trois jours à une tuberculose miliaire généralisée, aux poumons, aux reins, aux articulations.

Ces expériences, rapprochées des observations cliniques, montrent que la tuberculose pure des articulations a une marche beaucoup plus lente que la tuberculose compliquée; elle ne s'accompagne pas d'une fièvre aussi aiguë, ni d'un affaiblissement ni d'une destruction des tissus articulaires aussi rapide que les formes mixtes. C'est dans celles-ci que les symptômes sont les plus prononcés et les plus aigus.

C'est après la formation des fistules par suite du progrès de la tuberculose que les articulations peuvent être envahies par des microbes étrangers. Ils se cultivent peu à peu dans le trajet fistuleux, pénètrent dans l'articulation et évoluent à côté des ba-

cilles tuberculeux. La présence de ces microbes ajoutés modifie le cours et les symptômes de la tuberculose articulaire pure. L'apparition de suppuration chaude dans l'articulation, la formation d'abcès périarticulaires, la destruction des tissus sont les signes de cette invasion secondaire. Les bords des fistules deviennent bleuâtres, ulcérés, anfractueux, œdématiés; le pus qui s'écoule contient des flocons. En même temps qu'apparaissent des phénomènes généraux graves, fièvre avec exacerbations, diarrhée, affaiblissement etc., des déformations surviennent dans l'articulation, le membre est dévié latéralement et prend une direction vicieuse.

Un signe très important de cette tuberculose mixte, c'est l'existence du pus chaud, bien différent du pus tuberculeux qui a l'aspect d'un sérum clair entraînant des débris caséeux. Ce pus tuberculeux, peu riche en globules purulents, est bien distinct du pus ordinaire appelé « pus de bonne nature », contenant des globules en abondance et aussi des microbes pyogènes.

Le fait que dans les synovites tuberculeuses on trouve des bacilles tuberculeux associés à d'autres microbes, est un fait connu. Mais il était utile de définir ces microbes étrangers, de montrer qu'il y en a de pathogènes, que ceux-ci modifient profondément le processus fondamental, et compliquent non-seulement les symptômes locaux, mais atteignent la résistance de l'organisme tout entier, et donnent à ces tuberculoses mixtes une gravité exceptionnelle

Le but de ce travail est d'affirmer l'existence de la tuberculose articulaire mixte et de la distinguer de la tuberculose articulaire pure.

---



# SUR LE DOSAGE DE LA SUCRASE

(2<sup>e</sup> MÉMOIRE),

PAR M. A. FERNBACH.

---

J'ai montré dans le dernier numéro de ces *Annales* les variations considérables que subit l'activité d'un liquide renfermant de la sucrase, pour des variations très faibles dans la réaction de ce liquide, au voisinage de la neutralité : il suffit, en ajoutant peu à peu de la soude très diluée, de dépasser de très peu la neutralité aux papiers réactifs, pour que le pouvoir inversif du liquide devienne nul. Le résultat pratique de ces faits, au point de vue du dosage de la sucrase, est que tout dosage reposant sur l'action de la sucrase en milieu neutre est illusoire, puisque la neutralité exacte ne peut être réalisée, la sucrase elle-même étant un réactif de la neutralité plus sensible que tous ceux que l'on connaît jusqu'ici.

Après avoir constaté l'augmentation rapide de l'activité de la sucrase dans un milieu d'une acidité très faible mais croissante, il y avait lieu de se demander ce que devient cette activité lorsque l'acidité va en croissant indéfiniment. C'est là une étude qui a été abordée par M. Kjeldahl <sup>1</sup>; il en a indiqué très sommairement les résultats, comme je l'ai fait moi-même, pour les besoins de l'exposé, dans mon premier mémoire; mais ces résultats sont loin d'être aussi simples, tout au moins à interpréter, qu'ils paraissent paraître au premier abord, et méritent de nous arrêter quelque temps.

D'une manière générale, la quantité de sucre interverti par la sucrase, en présence de doses croissantes d'un même acide, va en croissant à mesure que la dose d'acide croît. Mais le phénomène d'interversion, qui était d'abord uniquement dû à la sucrase, influencée par l'acide, ne tarde pas, à partir d'une certaine dose d'acide, variable pour chaque acide, à se compliquer ;

1. *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet*, 1881.

il devient le résultat de la superposition de l'effet de l'acide seul et de la diastase, influencée par l'acide. La quantité de sucre interverti par l'acide seul va en croissant avec la dose d'acide; celle qui est intervertie par la diastase, influencée par l'acide, croît d'abord, puis va en décroissant, de telle sorte que nous devons trouver pour chaque acide une dose d'effet maximum.

Remarquons de suite que l'influence des différentes doses d'un même acide ne peut être exprimée par aucun chiffre, puisqu'il nous est impossible de savoir la quantité de sucre que la diastase intervertirait en l'absence de l'acide; mais nous pouvons, par la marche générale du phénomène, saisir le maximum de l'effet. Il nous suffit pour cela d'étudier l'effet des différentes doses d'un même acide, *en même temps et avec le même liquide diastasifère*.

Afin de discerner, dans ce phénomène complexe, tel que je viens de le présenter, la part qui revient à chacun des deux effets, il faut nous faire une idée de la quantité de sucre que l'acide agissant seul peut intervertir. L'étude complète de l'interversion du sucre par les acides étendus, à une température inférieure à 100°, quelque intérêt qu'elle puisse présenter, est trop en dehors du cadre de ce travail pour que j'aie songé à l'aborder actuellement; je ne veux en signaler ici que quelques points qui m'ont paru particulièrement importants, parce qu'ils jouent un rôle considérable dans toute l'étude de l'interversion du sucre par la sucrase en présence des acides, et qu'ils m'ont permis de trouver l'explication d'un certain nombre de faits dont le mécanisme me paraissait d'abord impénétrable. Je me bornerai à indiquer les principaux résultats, en les appuyant de quelques faits expérimentaux.

### I. — *Interversion du sucre par les acides étendus à la température de 56°.*

Le phénomène de l'interversion du sucre, à une température relativement basse, par les acides étendus, dépend, comme celui de l'interversion par la sucrase, d'un certain nombre de conditions, moins délicates, il est vrai, dont on a bien une notion générale, mais sur lesquelles on n'a pas, à ma connaissance, fait d'expériences précises. Il dépend, entre autres, de la concentration de l'acide, de la température à laquelle il agit, de la



durée de l'action, de la *concentration de la solution sucrée*. C'est cette dernière condition qui, pour nous, est la plus importante à considérer; examinons-la tout d'abord.

J'ai choisi trois acides, d'énergies variées, à des concentrations telles que l'intervention ne fût pas trop rapide, l'acide acétique, l'acide oxalique et l'acide sulfurique. Je les ai fait agir à la température de 56°, pendant 1 heure, sur des solutions sucrées renfermant des poids croissants de saccharose. Voici les résultats que j'ai obtenus :

*Acide acétique.*

Concentration <sup>1</sup> de l'acide.	Quantité de saccharose présent à l'origine, en grammes.	Quantité de saccharose interverti au bout d'une heure, en centigrammes.
10. . . . .	{ 1	4
	{ 2	8,2
	{ 3	12,8
20. . . . .	{ 1	6,6
	{ 2	13,2
	{ 3	18,8

*Acide oxalique.*

0,1. . . . .	{ 2	3,2
	{ 3	4,9
	{ 4	6,7
0,2. . . . .	{ 1	3,2
	{ 2	7,6
	{ 3	12,8
	{ 4	17,4
0,3. . . . .	{ 1	8,9
	{ 2	18,5
	{ 3	29,1
1. . . . .	{ 4	44,4
	{ 1	16,7
	{ 2	35
	{ 3	53,3
	{ 4	77,3

*Acide sulfurique.*

0,2. . . . .	{ 1	7,6
	{ 2	16,8
	{ 3	25,7
	{ 4	34,8

On voit que pour les trois premières séries d'essais, c'est-à-dire lorsque l'acide agit lentement, la quantité de sucre inter-

<sup>1</sup>. Tous les chiffres représentant ici et plus loin la concentration des acides expriment des millièmes, c'est-à-dire le nombre de grammes renfermé dans un litre.

verti est presque exactement proportionnelle à la quantité de saccharose présent à l'origine, ou à la concentration de la solution sucrée. Pour les autres essais, la quantité de sucre interverti croît plus rapidement que la quantité de saccharose.

Nous aurons à revenir sur ces faits tout à l'heure. Nous pouvons dès à présent y trouver l'explication d'un autre fait que j'ai observé dans l'étude de l'intervention du sucre par les acides étendus, à température basse. Lorsque l'intervention marche très lentement, la quantité de sucre interverti est sensiblement proportionnelle au temps, au moins pendant les premières heures, mais cette proportionnalité ne tarde pas à cesser et le phénomène à se ralentir. La quantité de saccharose va en effet constamment en diminuant, et par suite, la quantité de saccharose qui peut être interverti dans des intervalles de temps égaux va en diminuant également.

La connaissance des faits que je viens d'exposer nous permet maintenant de passer à l'étude de l'influence des acides sur la sucrase. Elle suffit pour préciser les conditions dans lesquelles nos expériences devront être faites.

## II. — *Intervention du sucre par la sucrase en présence de doses croissantes de divers acides.*

Je me suis placé dans les conditions expérimentales que j'ai décrites antérieurement. La quantité de saccharose présente dans chacun de mes tubes était toujours 2 gr. 5 (5<sup>cc</sup> d'une solution à 50 0/0). Dans le bain-marie réglé à 56°, à côté de chaque tube renfermant la sucrase et l'acide, j'en plaçais un autre destiné à mesurer la quantité de sucre interverti par l'acide seul; il renfermait la même dose d'acide que le premier et la même quantité de liquide diastasifère préalablement débarrassé de sa matière active par ébullition. J'ai constaté, en effet, que si l'on fait agir l'acide seul sur le sucre, en présence d'eau distillée, la quantité de sucre interverti n'est pas exactement la même qu'en employant la méthode que je viens d'indiquer; on trouve toujours un ou deux centigrammes de sucre interverti en plus, comme si les matériaux, en si faible quantité cependant, que le liquide diastasifère renferme, avaient une influence légèrement retardatrice sur l'activité de l'acide. Je me suis tou-



jours attaché à opérer avec un liquide diastasifère aussi neutre qu'on peut l'obtenir par le procédé que j'ai indiqué, et à n'étudier que les doses d'acide telles que l'acidité apportée par le liquide à sucrase fût négligeable.

Les nombres qui suivent expriment en centigrammes la quantité de saccharose interverti au bout d'une heure, déduction faite de celle que l'acide intervertit dans les conditions définies plus haut. Je ne donne en général que les résultats d'une seule série d'essais, choisie parmi toutes celles que j'ai faites comme me paraissant la plus probante.

*Acide sulfurique.*

Doses d'acide.	Quantité de sacc interverti en centigr.
0,025. . . . .	29
0,05 . . . . .	29
0,1. . . . .	29,1
0,2. . . . .	26,5
0,5. . . . .	13
1. . . . .	0

La difficulté de doser exactement, à cause de la faible acidité du liquide diastasifère, une quantité d'acide inférieure à 0,025, m'a obligé à ne pas pousser l'essai plus loin. On voit que le maximum est inférieur à cette dose. L'acide ne commence à intervertir du sucre pour sa part qu'à partir de la dose 0,05.

*Acide oxalique.*

0,025. . . . .	41,6	»
0,05 . . . . .	45,7	17,8
0,066. . . . .	»	19,5
0,1. . . . .	47	18,1
0,125. . . . .	»	17,7
0,2. . . . .	45,5	17,2
0,5. . . . .	36,2	»
1. . . . .	21,4	11,1
2. . . . .	3,7	2
4. . . . .	0	0

L'acide oxalique présente un maximum net correspondant à la dose 0,066 ou  $\frac{1}{15,000}$ . Cette dose d'acide n'intervertit pas de sucre pour sa part. Nous verrons tout à l'heure l'influence de cette circonstance sur la netteté du maximum.

E. S.

*Acide tartrique.*

Doses d'acide.	Sucre interverti en centigrammes.
0,05 . . . . .	38,5 »
0,1 . . . . .	57 »
0,2 . . . . .	63,2 »
0,25 . . . . .	» 60
0,5 . . . . .	» 66,6
1 . . . . .	64,8 67
2 . . . . .	» 64
4 . . . . .	» 56
5 . . . . .	52,4 »

*Acide succinique.*

Doses d'acide.	Sucre interverti en centigrammes.
0,05 . . . . .	32,2
0,1 . . . . .	33,7
0,2 . . . . .	36
1 . . . . .	36,7
2 . . . . .	37,2
4 . . . . .	36,6
8 . . . . .	35,2

*Acide lactique.*

0,1 . . . . .	36
0,2 . . . . .	36,1
0,5 . . . . .	36,8
1 . . . . .	36,8
2 . . . . .	36,8
5 . . . . .	37,8
10 . . . . .	33,7
20 . . . . .	32

*Acide acétique.*

0,1 . . . . .	61,7
0,2 . . . . .	65,8
1 . . . . .	72
2 . . . . .	73,5
5 . . . . .	73,3
10 . . . . .	73,2
20 . . . . .	73,3
50 . . . . .	50

On voit qu'avec l'acide oxalique la marche du phénomène apparaît nettement, surtout dans la première série de chiffres que je donne, la seconde n'ayant pour but que de préciser plus exactement la situation du maximum. L'acide, qui active d'abord l'action de la sucrase jusqu'au maximum, la retarde ensuite de plus en plus, jusqu'au moment où cette action devient nulle et où l'acide agit seul.

Il n'en est pas de même pour les autres acides, pour lesquels le maximum, ou du moins le maximum apparent, correspond à une dose capable d'intervertir pour sa part une quantité de sucre très appréciable. Voici en effet les quantités de sucre interverti, dans les conditions où je me suis placé, par ces doses de maximum apparent :

	Doses d'acide	Sucre interverti en centigrammes
Acide tartrique . . . . .	1	8,5
» succinique . . . . .	2	4,3
» lactique . . . . .	5	12,2
» acétique . . . . .	10	6,3

Avec ce dernier acide, la dose d'effet maximum est encore



moins nette qu'avec les autres, et si je lui assigne le chiffre 10 ou  $\frac{1}{100}$ , c'est parce qu'il est assez sensiblement la moyenne entre les chiffres 1 et 20 qui, comme l'expérience nous le montre, comprennent entre eux le maximum.

Pour trouver l'explication de la différence que présentent les derniers acides avec l'acide oxalique, il nous suffit de nous reporter à l'étude par laquelle nous avons commencé, de l'intervention par les acides seuls. Comme je l'ai dit plus haut, j'ai toujours fait, pour chaque dose d'acide, deux expériences simultanées dont l'une était destinée à mesurer la quantité de sucre interverti par l'acide seul. Or il est certain que le chiffre trouvé ne donne qu'une idée approchée et exagérée de ce que l'acide peut faire dans le tube voisin. Dans ce tube en effet, il y a de la sucrase, dont l'effet, exagéré par la présence de l'acide, tend à diminuer de plus en plus la quantité de saccharose présent. Par conséquent l'intervention par l'acide seul doit devenir de moins en moins active.

Cette différence, que le raisonnement appuyé sur les faits nous montre devoir exister entre nos deux tubes, ne peut, il est vrai, être considérable; elle ne dépasse certainement pas 3 ou 4 centigrammes; mais elle suffit pour effacer le maximum, sans que nous ayons le moyen de le faire apparaître plus nettement. Si en effet l'emploi d'un liquide très actif exagère cette différence, l'emploi d'un liquide moins riche en sucrase nous donne des nombres qui, au voisinage du maximum, diffèrent trop peu les uns des autres pour qu'on ne doive pas les considérer comme identiques.

Nous ne pouvons donc, avec ces acides, que connaître les limites qui comprennent le maximum, sans savoir exactement à quelle dose ce maximum correspond, et nous devons simplement le considérer, dans une approximation suffisante, et lorsqu'une indication plus nette fait défaut, comme situé à égale distance de ces deux limites extrêmes. C'est ainsi que nous avons assigné, pour l'acide acétique, à la dose de maximum d'effet le chiffre  $\frac{1}{100}$ .

Nous voyons de plus un fait que j'ai énoncé antérieurement et qui nous montre que l'approximation dont je viens de parler est suffisante : au voisinage du maximum, des variations no-

tables dans la dose d'acide ne se traduisent que par des variations insignifiantes dans la quantité de sucre interverti.

### III. — *Activité spécifique des divers acides.*

Si nous considérons les acides dans l'ordre dans lequel je les ai étudiés, nous voyons que le maximum d'effet correspond à des doses de plus en plus considérables. Nous pourrions donc dire que l'activité qu'un acide communique à la sucrase ou son activité spécifique est d'autant plus grande que le maximum d'effet est produit par une dose plus faible. On voit qu'en classant les acides d'après cette définition, comme je l'ai fait plus haut, ils ne se trouvent pas placés dans le même ordre que si on les rangeait d'après l'activité avec laquelle ils intervertissent le sucre.

Indépendamment de cette situation du maximum, variable avec les différents acides, il y avait lieu de se demander si l'effet produit par la dose maximum de chacun des acides sur une même quantité de sucrase serait différent, et si, à l'activité spécifique telle que je viens de la définir, ne s'en ajouterait pas une autre se manifestant par une action plus ou moins énergique suivant la nature de l'acide. Il fallait rechercher si, en faisant agir sur une même dose de sucrase, en présence de la même quantité de sucre, les doses des différents acides qui correspondent au maximum d'effet, on trouverait des chiffres différents ou identiques.

Voici les résultats de l'expérience :

	Doses d'acide.	Sucre interverti par l'acide et la diastase.	Sucre interverti par l'acide seul.	Différence des 2 chiffres précédents.
Acide sulfurique. . . . .	0,05	31,3	0,7	30,5
» oxalique. . . . .	0,066	30	0	30
» tartrique . . . . .	1	40	8,6	31,4
» succinique. . . . .	2	34,2	3,7	30,5
» lactique. . . . .	5	41,5	12,2	29,3
» acétique. . . . .	10	37,9	7,2	30,7

On voit que les chiffres de la dernière colonne sont assez peu différents pour qu'on puisse les considérer comme identiques et



n'envisager leurs différences que comme étant dues à des erreurs de dosage. Nous devons donc conclure que les différents acides ne manifestent pas d'autre activité spécifique que celle que nous avons définie plus haut.

IV. — *Comment une même dose d'acide acétique se comporte-t-elle en présence de doses variables de sucrase?*

Si je me suis étendu aussi longuement sur cette étude de l'influence des acides sur la sucrase, c'est que, en dehors de l'intérêt qu'elle peut avoir en elle-même, il pourrait en sortir un résultat pratique au point de vue du dosage de la sucrase.

Revenons à l'intervention en présence de  $\frac{1}{100}$  d'acide acétique. Comme je l'ai montré antérieurement, les différences de neutralité des liquides diastasifères disparaissent absolument devant cette dose. Aux raisons qui m'ont déterminé à faire choix de l'acide acétique, et que j'ai exposées dans mon premier mémoire, vient s'ajouter la suivante, qui est bien plus importante : en additionnant le liquide à sucrase d'acide acétique, on est sûr, à cause du peu d'énergie de cet acide, de n'en déplacer aucun autre qui pourrait se trouver dans le liquide à l'état de sel, et d'opérer en présence d'un acide unique.

L'emploi de l'acide acétique étant justifié par ces raisons, demandons-nous s'il ne pourrait pas nous servir à doser la sucrase avec précision. Quelles conditions cet acide, qui fait disparaître les causes d'erreur étudiées jusqu'ici, doit-il encore réaliser pour nous conduire à un semblable résultat? Il faudrait évidemment que son influence sur des quantités variables de sucrase fût proportionnelle à ces quantités. En d'autres termes, en intervertissant du sucre en présence de  $\frac{1}{100}$  de cet acide, toutes choses égales d'ailleurs, avec des quantités de liquide diastasifère représentées par les nombres 1, 2, 3, 4, et retranchant des quantités totales de sucre interverti celles qu'intervertit l'acide seul, trouve-t-on des nombres proportionnels à 1, 2, 3, 4? L'expérience d'abord, le raisonnement ensuite, nous répondent qu'il n'en est pas ainsi. Voyons d'abord l'expérience.

J'ai pris 1, 2, 3, 4<sup>cc</sup> d'un liquide diastasifère aussi exactement neutre que possible, et j'ai trouvé les résultats suivants :

Quantité de sucrase employée.	Sucre interverti par le liquide neutre.	Sucre interverti en présence d'acide acétique.
1	14,3	22
2	28,4	39,2
3	40,7	54
4	52,6	67

Le liquide neutre ne donne de chiffres proportionnels aux quantités que pour les deux premiers essais ; pour les deux autres, les chiffres sont inférieurs à ce qu'ils devraient être dans le cas de la proportionnalité. Cela tient à deux causes : la première, que j'ai exposée antérieurement, résulte de ce que le liquide n'est pas absolument neutre, mais probablement légèrement alcalin ; la seconde résulte de l'influence de la quantité de sucre interverti, qui est supérieure, à partir de l'essai 3, au  $\frac{1}{10}$  de la quantité totale de saccharose présent (2<sup>er</sup> dans chaque tube), influence qui a été mise en lumière par M. Duclaux. Mais même pour les essais 1 et 2, pour lesquels la proportionnalité existe, les quantités de sucre interverti en présence de l'acide ne sont pas entre elles comme les nombres 1 et 2. Il semble que l'acide agisse plus énergiquement sur les quantités de diastase les plus faibles que sur les quantités plus fortes.

Voici une autre expérience dans laquelle, l'intervention du sucre étant moins active et le liquide diastasifère plus neutre, la proportionnalité presque absolue existe pour le liquide neutre, mais qui présente les mêmes faits pour le liquide agissant en présence d'acide acétique.

Quantité de sucrase employée.	Sucre interverti par le liquide neutre.	Sucre interverti en présence d'acide acétique.	Chiffres proportionnels calculés.
2	3,8	5,4	5,4
3	5,7	7,4	8,1
4	7,7	9,5	10,8
5	9,6	11,5	13,5

Ces chiffres, étant moins élevés, présentent avec les nombres qui répondraient à la proportionnalité, et que j'ai inscrits dans la dernière colonne, une différence moins grande que ceux de la première expérience.

Si nous nous reportons à ce que nous avons appris sur l'intervention par l'acide seul, nous trouvons de ce fait de l'exagéra-



tion apparente de l'influence de l'acide sur la quantité de diastase la plus faible une explication simple, et nous voyons que les choses ne peuvent pas se passer autrement. En effet, si nous considérons deux tubes renfermant des quantités de diastase représentées par 1 et 2, le saccharose disparaît plus vite dans le second tube que dans le premier, parce qu'il y a plus de diastase, et par suite l'acide intervertit moins de sucre dans ce tube, de sorte que dans le résultat final de l'expérience, la part que nous faisons à l'effet de l'acide dans le second tube est exagérée, et la part qui doit être faite à la diastase est diminuée d'autant.

Nous ne pouvons donc pas appliquer immédiatement l'emploi de l'acide acétique au dosage de la sucrase. La variation de la quantité de sucrase, qui est précisément le fait intéressant à constater dans l'étude de la sécrétion de cette diastase par un être inférieur, introduit dans le phénomène de l'interversion en présence d'acide acétique, une complexité qui nous oblige à chercher une méthode détournée permettant d'arriver à un dosage exact. Je dois cependant faire remarquer que l'interversion en présence de l'acide acétique peut nous permettre d'étudier la marche de la sécrétion de la sucrase, et, si elle ne nous donne pas de renseignements très précis sur sa quantité absolue, elle peut cependant nous indiquer si cette quantité va en croissant ou en décroissant.

Si les faits que j'ai exposés jusqu'ici ne nous permettent pas encore d'atteindre la solution du problème du dosage de la sucrase, ils ont du moins l'avantage de nous faire saisir les influences multiples que subit la transformation du sucre par cette diastase. J'espère pouvoir prochainement faire un pas de plus vers la solution de la question, en exposant une méthode un peu plus compliquée que celle à laquelle je pensais arriver en commençant ce travail. On ne saurait s'attendre à un procédé de dosage simple pour une substance dont l'action est soumise à tant de causes de perturbation, si l'on songe que cette action même peut seule servir de moyen de mesure.

---

# VIBRIO METCHNIKOWI;

## VACCINATION CHIMIQUE.

PAR M. N. GAMALÉIA

---

### I

Si l'on sème le *vibrio Metchnikowi* <sup>1</sup> dans un bouillon nutritif, préparé avec des pieds de veau <sup>2</sup>, il s'y développe très abondamment à la température de 35-38°. A la surface du liquide se forment dès le surlendemain des membranes épaisses, constituées par des zooglées de vibrions. En agitant le liquide, on fait tomber ces membranes au fond de la fiole, ce qui permet la formation de nouveaux voiles à la surface. Ces phénomènes continuent pendant quatorze jours, au bout desquels la culture paraît être arrêtée. Même à travers le bouchon, on sent une odeur caractéristique, exhalée par ces cultures. Cette odeur devient beaucoup plus intense quand on procède à la stérilisation du liquide, à 120° pendant une demi-heure.

Ce liquide stérilisé, *fraîchement préparé*, a une action toxique pour certains animaux comme les cobayes, pigeons, poules, chiens et moutons. Les *cobayes* sont à poids égal les plus sensibles à l'action de ce poison. Quatre centimètres cubes de ce liquide, injectés en une fois à des cobayes de 250 à 400 grammes, les tuent <sup>3</sup>. Leur mort, qui survient dans 12 ou 20 heures, est précédée par un abaissement progressif de la température du

1. Voir les « *Annales* » 1888, nos 9 et 10.

2. Les pieds de veau hachés sont chauffés avec trois fois leur poids d'eau, à l'autoclave à 115° pendant 2 heures. Puis on passe par le linge, on ajoute encore le même volume d'eau, 1 0/0 de peptones, 1/2 0/0 de sel, on neutralise par la potasse, on chauffe une demi-heure dans la marmite de Papin à 120°, et on filtre sur du papier.

3. Les inoculations ont été toujours faites dans les muscles.

corps. A l'autopsie on trouve un œdème gélatineux hémorrhagique à l'endroit de l'inoculation; l'intestin est hyperémié et plus ou moins rempli d'un liquide sanguinolent contenant l'épithélium desquamé.

Les doses plus faibles que 1<sup>cc</sup> pour 100 grammes de poids vivant n'amènent que quelques désordres passagers de l'économie. Ces désordres sont différents pour les doses moyennes et petites. Tandis que les premières (plus d'un 1/2<sup>cc</sup> pour 100) provoquent un abaissement de la température allant jusqu'à 2°,5, au-dessous de la normale, les doses très petites conduisent à une hyperthermie de 1° — 1°,5. Ces changements de la température disparaissent au bout de quelques heures, après quoi on ne distingue plus aucun trouble chez les animaux inoculés<sup>1</sup>.

Une fois la température redevenue normale, le lendemain ou le surlendemain après la première inoculation, on peut impunément la répéter. *Les effets toxiques ne s'accumulent pas.* Grâce à ce fait, on peut dépasser de plusieurs fois la dose mortelle d'emblée, en faisant les inoculations par des petites doses fractionnées.

D'un autre côté, on ne trouve chez les cobayes aucune accoutumance à l'effet du liquide toxique. Par de nombreuses expériences comparatives entre les cobayes déjà intoxiqués et les cobayes neufs, j'ai constaté que leur réceptivité reste toujours la même. Elle ne change ni par rapport aux doses mortelles qui continuent à tuer les cobayes antérieurement intoxiqués comme les cobayes neufs, ni par rapport aux doses moyennes et très petites (jusqu'à 1/10 de c. c.) qui provoquent la même réaction fébrile chez ces deux genres d'animaux. Je n'ai pu constater non plus aucune différence dans la durée et le moment de l'apparition de cette réaction.

Les *pigeons* succombent facilement aussi par l'injection intramusculaire du liquide toxique. Seulement, ils sont plus résistants, et leur mort n'arrive qu'avec 12<sup>cc</sup> de liquide pour 200<sup>gr</sup> de poids vivant. C'est-à-dire qu'à poids égal ils sont trois fois plus résistants que les cobayes. La mort est précédée de l'hypothermie comme chez les cobayes, et les phénomènes trouvés à l'au-

1. Pourtant les cobayes pleines avortent ordinairement après l'inoculation. Les animaux tuberculeux sont extraordinairement sensibles à l'action toxique de notre liquide.



topsie sont les mêmes. Les doses espacées ne provoquent qu'une hypothermie passagère, n'ont pas d'effets cumulatifs, et on ne constate pas non plus d'accoutumance au liquide toxique.

Cette accoutumance apparaît pourtant chez les autres espèces animales : les poulets, les chiens et les moutons.

Les *poulets* accusent la réaction contre l'inoculation toxique par une élévation notable de la température, qui peut atteindre 44°. La répétition des mêmes doses conduit à des réactions de plus en plus faibles.

Les *chiens* paraissent être tout aussi sensibles que les cobayes pour des quantités égales par kilo. L'intoxication se traduit chez eux, outre l'élévation de la température, par la diarrhée et les vomissements. Mais l'immunité toxique s'acquiert très vite, et la répétition des mêmes doses et de doses doubles n'a plus le même effet.

Les *moutons* intoxiqués n'ont pas la fièvre, mais de la diarrhée et des vomissements. Ils sont moins sensibles que les chiens, et tout aussi faciles à habituer à la toxine.

Les *lapins* sont extrêmement peu sensibles au liquide toxique. Ils supportent impunément et sans troubles l'injection de 20 et 40 c. c de liquide.

Toutes ces inoculations ont été faites dans le tissu musculaire. L'inoculation sous-cutanée est moins dangereuse pour la vie, c'est-à-dire peut être faite avec des doses plus fortes sans produire la mort. Mais elle détermine des œdèmes considérables.

L'inoculation intrapéritonéale, au contraire, amène plus facilement la mort.

Cet exposé rapide nous permet d'arriver aux conclusions suivantes :

Les effets toxiques, produits par la culture stérilisée des vibriens de Metchnikoff, ne s'accumulent pas, et en additionnant des doses inoffensives, on peut dépasser de beaucoup la dose mortelle sans produire un accident fâcheux quelconque.

Les divers animaux varient non seulement dans leur réceptivité vis-à-vis de la toxine, mais aussi dans leur faculté à s'habituer à ce poison : nulle chez les uns, cette faculté est très apparente chez les autres.

## II

Quoique les cobayes, plusieurs fois intoxiqués par notre liquide, n'acquièrent aucune immunité vis-à-vis du virus mort, ils deviennent, au contraire, complètement réfractaires par rapport à l'infection par le virus vivant. Cette immunité, qui reste relative après les premières inoculations par le vaccin, devient complète dès que la somme de liquide inoculé à diverses reprises a dépassé la dose mortelle de 4<sup>cc</sup> par 400 gram. Par conséquent, l'action vaccinale s'accumule, tandis que l'action toxique ne le fait pas.

Ainsi, par exemple :

EXPÉRIENCES. — 29 août 1888. Quatre cobayes sont inoculés à 10 h. du matin sous la peau, par du sang d'un pigeon de passage contenant beaucoup de vibrions.

Le n° 1 avait reçu 4<sup>cc</sup>. de vaccin.

Le n° 2 — 3<sup>cc</sup>. —

Le n° 3 — 1/8<sup>cc</sup>. —

Le n° 4 est un cobaye neuf.

Leurs températures sont :

	A 2 h.	A 4 <sup>h</sup> 1/2.
N° 1. . . . .	40°	39,2° reste bien portant.
N° 2. . . . .	41,4	41,4° meurt le 2 <sup>5</sup> août au matin.
N° 3. . . . .	40,5	37° meurt pendant la nuit.
N° 4. . . . .	39,2	34° id.

A l'autopsie on trouve un œdème sous-cutané hémorragique chez les n°s 3 et 4. Beaucoup de vibrions dans le sang du cœur du n° 4. Peu chez les n°s 3 et 2. Ce dernier a un œdème clair. Son intestin hypérémié contient des vibrions et des leucocytes polynucléaires, tandis que l'exsudation intestinale des n°s 3 et 4 contient l'épithélium desquamé, comme c'est la règle dans cette maladie.

11 août 1888. — 3 cobayes ayant reçu 8, 6 et 4<sup>cc</sup>. de vaccin stérile sont inoculés sous la peau, en même temps qu'un cobaye témoin, avec 1/4 de centimètre cube de sang de pigeon de passage. Le témoin meurt dans la nuit, les cobayes vaccinés restent bien portants.

16 août 1888. — On fait avaler à 5 cobayes vaccinés (de 8 à 4<sup>cc</sup> de vaccin.) et à 2 cobayes témoins, à chacun 5 à 6<sup>cc</sup> d'une culture fraîche de *vibrio*

*Metchnikovi* dans du bouillon. Un des vaccinés commence immédiatement à tousser et meurt moins d'une demi-heure après, avec un liquide écumeux sortant par le nez. Dans son médiastin on trouve du sang. Les deux témoins meurent le lendemain avec des vibrions dans le sang; les 4 autres vaccinés sont bien portants.

30 août. — 2 cobayes vaccinés et contrôlés, 4 cobayes vaccinés par 4 à 7<sup>cc</sup> de vaccin et 1 cobaye neuf sont inoculés par 1/8 de centimètre cube de sang de pigeon de passage, dans le péritoine. Le témoin meurt le lendemain; les cobayes vaccinés restent bien portants.

16 septembre. — 5 cobayes vaccinés (de 4 à 8<sup>cc</sup>) et 2 témoins sont inoculés par 1/4 de centimètre cube de sang de pigeon de passage dans le poulmon droit, à travers la plèvre. Un des vaccinés meurt de suite par lésions de l'artère pulmonaire. Les 4 autres restent bien portants, tandis que les deux témoins meurent pendant la nuit. A l'autopsie, exsudation pleurétique, avec de nombreux vibrions.

On voit que l'immunité conférée aux cobayes par le vaccin chimique est extrêmement régulière et constante. Nous pouvons ajouter qu'elle paraît très durable, puisque nous l'avons retrouvée après plusieurs mois.

Ainsi, les animaux qui ne s'habituent pas à la toxine chimique, acquièrent au contraire facilement une immunité vis-à-vis de l'infection.

### III

Les pigeons sont aussi vaccinés par les vaccins chimiques. Seulement, et c'est un point très important, la quantité nécessaire à leur vaccination est trois fois plus grande que celle qui est suffisante pour les cobayes; elle correspond, chez les pigeons aussi, à la dose mortelle qui est de 12<sup>cc</sup> pour 200<sup>gr</sup> de poids vivant. Par exception, il arrive quelquefois qu'on réussit à vacciner par une quantité plus petite (6 ou 8<sup>cc</sup>.)

Outre que l'immunité s'acquiert plus difficilement chez le pigeon que chez le cobaye, elle est aussi moins stable. Par conséquent, en inoculant à plusieurs jours d'intervalle les mêmes pigeons par le virus vivant, on peut en perdre chaque fois quelques-uns. Il est pourtant probable qu'en augmentant la quantité du vaccin inoculé, on arriverait à une constance plus grande de l'immunité.



17 août. — On injecte  $1/8$  de centimètre cube de sang de pigeon de passage dans les muscles de :

4 pigeons vaccinés par	16 <sup>cc</sup>	de culture stérile.
3	—	14 <sup>cc</sup> id.
2	—	12 <sup>cc</sup> , et d'un témoin.

Le témoin meurt pendant la nuit, tandis que tous les pigeons vaccinés restent vivants.

J'attache la plus haute importance à ce fait, qu'un animal plus réfractaire, comme l'est le pigeon vis-à-vis du cobaye, exige pour la production de l'immunité une quantité non pas plus petite, mais au contraire plus grande du vaccin chimique.

Les poulets peuvent être aussi vaccinés par le vaccin chimique.

21 septembre. — 3 poulets sont inoculés par la trachée au moyen d'un liquide virulent, pris dans l'exsudation pleurétique d'un lapin, tué par le vibron de Metchnikoff.

Le n° 1 vacciné par 29<sup>cc</sup> reçoit 1<sup>cc</sup> de virus.

Le n° 2 — 33<sup>cc</sup> —  $1/4$ <sup>cc</sup> —

Le n° 3 témoin  $1/4$ <sup>cc</sup> —

Le n° 2 reste bien portant, les n°s 1 et 3 succombent. Les vibrions ne se trouvent que dans les poumons du vacciné; ils ont envahi le sang du témoin.

Nous avons réussi également à vacciner les poulets contre l'injection du virus par le gosier, ce qui tue les poulets neufs.

#### IV

Pour contrôler l'acquisition de l'immunité chez les poulets et les autres animaux, plus résistants vis-à-vis de l'infection par le *vibrio Metchnikovi* que les cobayes et les pigeons, nous avons eu recours à un virus exalté.

Les lapins, comme nous l'avons dit, sont très résistants à notre vibron. Pourtant, ils succombent à l'inoculation par la

plèvre de 2 à 4<sup>cc</sup> de sang de pigeon dans le poumon. Si l'on inocule de la même manière l'exsudation pleurétique de ces lapins morts à d'autres lapins, on voit qu'ils sont tués par des doses plus petites, 1<sup>cc</sup>, 1/2<sup>cc</sup>. Ainsi par plusieurs passages on arrive à tuer les lapins par une demi-goutte (1/16 de centimètre cube) de l'exsudation pleurétique mêlée avec de l'eau stérile. L'exaltation du virus se manifeste par la rapidité de la mort, qui survient en 3-5 heures, ainsi que par les lésions trouvées à l'autopsie. L'intestin devient de plus en plus diarrhéique, rempli par un liquide contenant des épithéliums desquamés et des vibrions. Le sang du cœur contient aussi ces derniers en nombre énorme. Pourtant, il ne s'agit pas ici d'une exaltation durable de virulence : les cultures, faites avec le sang des lapins tués par le vibron, ont la virulence ordinaire. Il faut croire, que dans ces cas de passages à travers les lapins, il se fabrique une toxine excessivement active qui produit l'invasion typique des vibrions <sup>1</sup>.

En tout cas, cette exsudation pleurétique est tout ce que nous connaissons de plus virulent et infectieux, et c'est elle qui m'a servi pour le contrôle des animaux vaccinés. De cette manière, j'ai pu voir que l'immunité peut être conférée aussi aux chiens et aux moutons.

Quant au lapin, le plus résistant de tous les animaux de nos expériences à l'intoxication chimique, nous n'avons pas jusqu'ici réussi à lui conférer une immunité complète vis-à-vis du virus vivant. Même après avoir reçu jusqu'à 180<sup>cc</sup> du vaccin, les lapins n'acquièrent qu'une immunité relative, qui se traduit par un retard de leur mort sur celle de témoins, et par l'absence des vibrions dans le sang du cœur. Une fois, même, nous n'avons pas du tout trouvé de vibrions dans le corps d'un lapin mort d'une injection virulente faite après vaccination ; ce qui prouverait une immunité contre le virus vivant, mais non pas contre la toxine.

Cette difficulté que rencontre la vaccination des lapins confirme la conclusion tirée de la comparaison de l'acquisition de l'immunité par les cobayes et les pigeons ; elle prouve, notamment, que la vaccination chimique des animaux contre l'infection est d'autant plus facile qu'il sont plus sensibles à l'action toxique du vaccin.

1. J'espère pouvoir revenir sur cette question.

Ajoutons, pour être complet, que la vaccination des cobayes peut aussi être faite d'un seul coup par l'inoculation sous-cutanée, qui est moins toxique et qui permet, par conséquent, d'introduire à la fois une quantité plus grande de vaccin.

## V

Les chiffres que nous avons donnés sur la toxicité et le pouvoir vaccinant des cultures de vibrions se rapportent, comme nous l'avons dit, à des liquides fraîchement préparés. Si, au contraire, on les laisse se reposer pendant quelques jours, (deux semaines en général), on constate toujours des changements importants survenus dans leur pouvoir toxique et vaccinant. Déjà, l'odorat révèle la diminution de la quantité d'ammoniaque contenue dans le liquide. En rapport avec ce fait, l'œdème produit par des doses mortelles n'est plus sanguinolent, mais blanchâtre. Beaucoup plus importante est la modification dans l'activité du liquide, qui est toujours doublée dans ces conditions. Les cobayes succombent à l'inoculation non pas de 4, mais de 2<sup>cc</sup>. Les pigeons sont tués par 4-6<sup>cc</sup>. Cette exaltation de la toxicité des cultures stérilisées est si prononcée qu'elle nous a fait perdre plusieurs animaux d'expérience vaccinés par des doses de 2<sup>cc</sup>, réputées inoffensives. Elle est aussi parfaitement constante, puisqu'elle apparaît *toujours* dans nos vaccins laissés en repos.

Le pouvoir vaccinal croît parallèlement à la toxicité, et 2<sup>cc</sup> des cultures anciennes sont suffisants pour conférer l'immunité aux cobayes, comme le sont 4<sup>cc</sup> des cultures fraîches.

Quant à l'interprétation de ce fait important et imprévu, nous croyons qu'elle doit être la suivante.

Dans nos vaccins qui ne sont pas filtrés, la *substance toxique et vaccinale* est contenue dans les membranes épaissies des zooglées des vibrions. Elle ne se dissout que lentement dans le liquide environnant, et c'est cette portion dissoute qui donne l'action toxique et vaccinale. Après que les bactéries ont été tuées par la chaleur, cette diffusion de cette substance, pour le moment inconnue, continue, contribuant à accroître l'activité du liquide.

La manière de voir que nous venons d'exposer rendrait aussi



compte du phénomène suivant. Si l'on neutralise exactement, avec un acide, le vaccin frais qui est toujours très alcalin, au bout de quelques heures le liquide redevient alcalin et l'on est obligé de répéter plusieurs fois la neutralisation. Cette réaction pourrait bien résulter de la dissolution successive de nouvelles quantités d'une substance alcaline.

Du reste, il est facile de prouver ce que nous avançons, en étudiant séparément l'activité du liquide et des membranes, formées par les vibrions. Cette comparaison montre toujours une activité beaucoup plus grande dans les membranes.

Ainsi, voici les résultats d'une série d'expériences, faites avec une culture peu toxique, faite au-dessous de 35°.

	Doses non mortelles.	Doses mortelles.
Culture filtrée sur porcelaine. . .	46 <sup>cc</sup>	20 <sup>cc</sup> en 2 jours. 24 <sup>cc</sup> en 24 heures.
Culture filtrée sur le coton . . . .	42 <sup>cc</sup>	46 <sup>cc</sup>
Culture épaisse non filtrée . . . .	6 <sup>cc</sup>	40 <sup>cc</sup>

Ajoutons, aussi, que M. Roger pour la vaccination charbonneuse, et M. Charrin pour la bacille du pus bleu, ont cru voir une activité plus grande chez les cadavres des microbes.

Ce fait de la virulence plus grande des liquides anciens, avec l'interprétation que nous lui avons donnée, conduit à des conséquences intéressantes.

Il nous montre que les substances actives sont retenues dans les zooglées microbiennes; qu'elles n'en sortent que par une diffusion lente; qu'elles n'agissent pourtant sur l'économie animale que si elles y sont introduites déjà dissoutes. Par conséquent, une toxine très énergique peut ne pas être décelée dans les cultures d'une bactérie pathogène, uniquement parce que cette toxine ne serait pas dissoute dans les liquides de culture.

Comment expliquer cette inactivité de la substance non dissoute? C'est parce que les microbes morts et leurs zooglées introduits dans l'économie animale sont promptement incorporés dans les leucocytes, les « balayeurs » du corps, où ils sont, comme de raison, assimilés et détruits. Emprisonnées à l'intérieur de cellules, les substances non dissoutes ne peuvent dégager leur action toxique ou vaccinale sur tout l'organisme.

Ainsi, il faut croire que la fonction épuratrice des leucocytes peut présenter un obstacle sérieux à l'acquisition de l'immunité.

Ici, peut se trouver une des causes de ce fait, que les maladies infectieuses dans lesquelles les microbes sont contenus dans les cellules, comme la blennorrhagie, la tuberculose, la fièvre intermittente, ne vaccinent pas par leur première invasion.

## VI

Les milieux gélatinisables (pieds de veau, tête de veau) conviennent très bien pour les expériences que nous venons d'exposer. Mais il était intéressant de rechercher comment se ferait la production du vaccin dans d'autres milieux de cultures.

L'addition de 5 % de glycérine ne modifie pas la teneur des cultures en substance active.

Dans les bouillons ordinaires, les cultures s'arrêtent très vite et ne donnent qu'une faible récolte de vaccin. Nous avons réussi à rehausser le pouvoir nutritif des bouillons en y introduisant une substance hydrocarbonée, comme la gomme arabique. Alors, la culture devient très abondante, les membranes qui se déposent au fond du vase sont tout aussi épaisses qu'avec le bouillon de pieds de veau, et le développement continue tout aussi longtemps. Mais l'activité de la culture ne correspond pas du tout à son abondance. La toxicité du liquide stérilisé est de 12<sup>cc</sup> et la toxicité des membranes est de 8<sup>cc</sup> pour le cobaye.

Ainsi, on voit que la fabrication de la substance toxique et vaccinale est subordonnée à l'alimentation des vibrions, et que le régime non azoté lui est défavorable. L'addition de la gélose ne nous a pas donné de bonnes cultures.

Par contre, le bouillon fait avec la gélatine (à 15-20 %), où la multiplication n'était pas du tout si abondante que dans les cultures avec pieds de veau ou la gomme arabique, est très remarquable pour la grande production de la substance active. Ainsi une culture, semée depuis 20 jours et stérilisée, tuait les cobayes à la dose de 2<sup>cc</sup> lorsqu'elle était injectée dans les muscles.

Des faits précédents on peut conclure que c'est la substance azotée qui sert à la fabrication de la substance active. On pourrait croire que les matières albuminoïdes donneraient des résul-

tats encore meilleurs. Aussi avons-nous fait des cultures dans le hachis de viande. Celle-ci est très bien digérée par notre vibron, surtout si on l'humecte auparavant avec de la glycérine, qui favorise probablement la pénétration de la diastase. Les cultures achevées ont une odeur caractéristique rappelant celle de l'extrait Liebig. Cette odeur est très forte et persistante. L'activité du liquide stérilisé est de 4<sup>cc</sup>, injectés dans les muscles, et de 3<sup>cc</sup>, introduits dans le péritoine des cobayes. La culture dans les œufs en nature est très active, mais elle présente certains inconvénients. Dans les œufs, mélangés dans une fiole avec du bouillon stérile, nous n'avons pas obtenu de bonnes cultures.

Ainsi, pour résumer, l'activité des vaccins dépend de la composition des milieux de culture, et résulterait de la transformation des substances gélatineuses.

Ces variations dans la production du vaccin, tout à fait conformes à nos autres connaissances sur la microbiologie chimique, sont très importantes au point de vue pratique de la fabrication des vaccins. Ajoutons, que l'influence de la température sur la richesse des cultures en vaccin est aussi très manifeste.

## VII

Quelle est la substance qui a le pouvoir toxique et vaccinal dans nos cultures? L'importance de cette question est si grande que, faute de l'avoir résolue, nous ajournions toujours la publication de ce travail, fait à Odessa depuis plus d'un an. Malheureusement, nos occupations actuelles ne nous permettent pas d'en prévoir la solution prochaine. D'un autre côté, comme les cultures de vibron de Metchnikoff, données dans d'autres mains, peuvent conduire à la répétition de nos recherches, nous avons cru opportun de faire connaître nos travaux.

Pourtant, nous avons fait quelques essais pour caractériser la fonction active de nos vaccins.

Et d'abord, on peut être sûr que le vaccin n'agit pas par une substance « empêchante. » Si l'on additionne d'une substance nutritive quelconque, les cultures stérilisées dans le bouillon de pieds de veau, le vibron s'y développe de nouveau <sup>1</sup>.

1. Naturellement nous ne nions pas l'existence de la « substance empêchante » dans les cultures d'autres microbes, par exemple, celui de la tuberculose.



La distillation dans le vide a démontré que la substance vaccinale est *volatile*, puisque avec le liquide distillé nous avons réussi à vacciner un cobaye et un pigeon.

Nos tentatives de retenir cette substance par un acide (acide tartrique ou acide chlorhydrique), n'ont pas abouti : elle est détruite par l'ébullition dans un milieu acide. Par contre, dans un milieu alcalin, notre substance supporte très bien des températures élevées, car il nous est arrivé de chauffer à plusieurs reprises nos vaccins à 120° pendant 30 minutes et même 1 heure, sans qu'ils perdent leur activité.

Quant à la question de savoir si la toxine et le vaccin sont une seule et même substance, ou bien deux substances différentes, nous serions tenté d'admettre la première solution. Dans toutes nos expériences, le pouvoir toxique et la force vaccinale ont toujours marché de pair. Du reste, comme les notions de vaccination et d'immunité sont complexes, cette question n'a pas l'importance qu'elle paraît avoir au premier abord. Ainsi, par exemple, nous avons vu que les vieux vaccins ne produisent plus, faute d'ammoniaque, l'œdème sanguinolent local. Pourtant, cet œdème est une des lésions qui caractérisent l'infection. Ceci est pour la toxicité ; quant à la vaccination, nous en parlons plus loin. Ajoutons encore que nos cultures toxiques donnent une magnifique coloration violette avec l'acide chlorhydrique.

## VIII

Nous croyons que de l'étude précédente se dégagent quelques idées nouvelles concernant la nature de l'immunité.

On a vu que la susceptibilité d'un animal donné à l'action toxique du vaccin marche parallèlement à la facilité avec laquelle il se vaccine contre le virus vivant. En d'autres termes, la vaccinabilité est proportionnelle à la sensibilité toxique. Il est vrai que nos recherches ont établi une relation encore plus précise entre ces deux qualités, puisqu'elles ont montré que la dose totale nécessaire à la vaccination est celle qui tue, quand elle est donnée d'emblée. Mais cette relation précise, établie pour un seul mode d'inoculation, l'inoculation intramusculaire, pourrait ne pas avoir une portée générale, tandis que la proportionnalité entre la sensibilité et la facilité d'être vacciné nous paraît se

vérifier dans d'autres maladies. Pour le choléra asiatique, par exemple, elle est tout à fait sûre. Comment expliquer ce fait? Cette question est difficile à discuter avant un examen plus intime de la nature de l'immunité. Et nos recherches prouvent que, même étudiée dans sa plus simple expression, c'est-à-dire comme résistance à un virus dissous, la vaccinabilité présente des variations très grandes chez les divers animaux. Ainsi, en ce qui concerne le *vibrio Metchnikovi*, chez les uns (les cobayes), les centres nerveux ne s'habituent pas du tout à l'action toxique, et la traduisent toujours de la même manière par la fièvre, ou l'hypothermie et la mort; tandis que les autres cellules, probablement endothéliales et leucocytaires, changent complètement leur mode de réaction, comme on peut en juger par la résistance à l'inoculation du virus vivant<sup>1</sup>. Chez d'autres animaux (moutons), au contraire, les cellules nerveuses s'habituent très vite, et en répétant les inoculations on ne remarque plus leurs troubles, tandis que l'immunité vis-à-vis du virus vivant est très difficile à atteindre. Chez les autres (chiens), les deux immunités semblent marcher ensemble et se réalisent facilement. D'autres enfin (lapins), ne changent leur réaction ni dans les centres nerveux, ni vis-à-vis du virus vivant. Par conséquent, l'immunité peut être envisagée à des points de vue différents : comme résistance à la dose mortelle, comme absence de troubles nerveux (vomissements et diarrhée); comme absence de perturbations thermiques (fièvre ou abaissement de la température); comme absence des lésions locales (œdèmes ou abcès); comme résistance à l'infection vivante<sup>2</sup>. Et on a vu que toutes ces immunités sont loin de marcher de pair, qu'au contraire, elles peuvent facilement se dissocier chez les différents animaux et, ajoutons-le, par rapport aux virus différents.

L'application de ces données aux faits connus de la pathologie des maladies infectieuses contribue à jeter sur elles un jour nouveau. On comprend, par exemple, comment la pneumonie récidive chez l'homme, et ne récidive pas chez le lapin qui est beaucoup plus susceptible à l'infection. Mais, faisons un pas de plus et nous arriverons à une conclusion qui peut avoir une

1. Voir, page 543, notre première expérience sur l'infection des cobayes vaccinés.

2. On comprend alors, que de même qu'il existe diverses « immunités » dans la même maladie, on peut aussi trouver plusieurs substances « vaccinales ».

importance pratique très considérable. Supposons un animal qui aurait besoin pour l'acquisition de l'immunité microbique (c'est-à-dire contre l'infection par un agent vivant) d'une dose très grande de la toxine de ce microbe, et dont le système nerveux serait en même temps très sensible à cette toxine donnée : il est clair que, de par la maladie, l'immunité ne serait jamais acquise. Pourtant, au moyen des vaccins chimiques divisibles à volonté, on pourrait le rendre tout de même réfractaire. De cette manière, nous sommes en mesure de *créer une immunité* qui n'existait pas dans la nature <sup>1</sup>.

J'ajouterai encore un mot sur la vaccination contre le vibron de Metchnikoff. L'intérêt que nous avons porté à son étude, était considérablement augmenté pour nous par les analogies profondes qu'elle présente avec la vaccination anticholérique. *Mutatis mutandis*, plusieurs des chapitres précédents pourraient s'appliquer au choléra. Cette ressemblance est d'autant plus remarquable que les substances chimiques vaccinales sont certainement différentes, puisque la vaccination réciproque, que nous avons cru observer pour les pigeons, n'existe pas pour les autres animaux. Les cobayes, par exemple, ne se vaccinent par aucune de ces maladies contre l'autre.

1. On pourrait objecter aux raisonnements précédents que c'est à tort que le mot d'*immunité*, qui doit être réservé pour la résistance à l'infection, y est appliqué à l'insensibilité toxique qu'on pourrait nommer *habitude*, comme pour les poisons minéraux. Nous croyons, pourtant, que cette distinction n'aurait aucune valeur ni théorique, ni pratique, parce que, premièrement en théorie, nous ne savons pas encore si l'immunité à l'infection n'est pas entièrement décomposable en une accoutumance de certaines cellules à l'action toxique des microbes (Voir notre article sur la vaccination charbonneuse dans les « Annales » 1888 n° 10), et parce que, deuxièmement, l'« habitude » à l'intoxication pourrait bien être un phénomène complexe, impliquant l'action de divers appareils physiologiques. Quant à la pratique, nous n'avons pas besoin d'insister sur ce que certaines maladies peuvent mettre au premier plan dans l'ordre d'importance l'une ou l'autre des immunités que nous avons décrites. Ainsi, par exemple, pour la diphtérie, c'est contre l'intoxication nerveuse qu'il s'agirait de pouvoir vacciner et d'obtenir l'immunité. Enfin, les vaccins figurés n'agissant que d'après les mêmes principes que les vaccins chimiques (Voir l'article que nous venons de citer), de ce côté aussi la distinction ne peut non plus être maintenue. Et dans l'action de vaccins chimiques, on voit tout de suite apparaître les différentes « immunités » précitées. Par conséquent, nous insistons pour donner à ce mot d'immunité son sens le plus large

---



# NOTE SUR LA FORMATION DES SPORES DANS LA LEVURE

Par M. E. DUCLAUX.

---

La publication du mémoire de M. Kayser, qu'on trouvera en tête de ce numéro des *Annales*, me conduit à revenir sur un fait de nature à jouer un rôle dans l'interprétation des résultats de mon récent travail sur la durée de conservation des levures dans des liquides qu'elles ont fait fermenter. Je veux parler de la formation de spores dans des levures ainsi conservées.

Jusqu'ici cette formation de spores n'avait été signalée que chez les globules de levure qu'on soumet, par un moyen quelconque, à de fâcheuses conditions d'existence, par exemple à l'inanition. On n'en trouve aucune trace dans la levure jeune, ou même âgée de quelques mois, conservée dans la bière ou dans un liquide nutritif artificiel qu'elle a fait fermenter. A mesure qu'elle y vieillit, on voit apparaître, dans un nombre de plus en plus grand de globules, des granules ronds de matière grasse, qu'on est d'autant plus exposé à confondre avec des spores qu'ils se couvrent souvent, à leur surface, d'un fin précipité protoplasmique qui masque un peu l'homogénéité de leur substance et adoucit leurs contours noirs et nettement dessinés. Il ne reste plus alors, comme *criterium*, que l'étude des dimensions. Les spores formées dans un globule sont toujours, ou à peu près, de grosseur égale. Il est rare, au contraire, qu'il en soit de même pour les globules gras. Mais ce caractère

n'est vraiment utile que quand il y a beaucoup de globules à spores. L'esprit reste indécis quand ils sont très rares, et tel est toujours le cas dans les dépôts de levures conservées dans des liquides nutritifs qu'elles ont fait fermenter. Pourtant M. Kayser a raison d'affirmer leur présence. On voit, en effet, très nettement, quelques cellules à spores dans les vieux dépôts de levures, datant de 15 ans et plus, sur lesquels j'ai opéré.

Partant de là, on pourrait croire que la longue vitalité de ces dépôts a son explication dans l'existence de ces spores, en petit nombre, même en si petit nombre qu'elles échappent quelquefois à un examen soigneux, mais capables pourtant de féconder le liquide nouveau dans lequel on les enseme. Dans cette interprétation, ce serait la spore qui serait vivace, et non le globule.

Le doute où je suis longtemps resté au sujet de l'existence de spores m'avait conduit à examiner la validité de cette interprétation, qu'une observation facile m'a fait abandonner. Quand on enseme dans un liquide nutritif, contenu dans une petite cuve à recouvrement placée sous le microscope, un petit nombre de cellules de levure provenant d'un vieux dépôt, et qu'on examine à un assez faible grossissement pour avoir dans le champ une cinquantaine de globules, on constate que la proportion de ceux qu'on voit bourgeonner est de beaucoup supérieure à celle de ceux qui montraient des spores, même en comptant comme spores authentiques tout ce qui en a un peu l'aspect. J'avais essayé, quand la méthode de culture sur plaques de gélatine s'est popularisée dans les laboratoires, de comparer le nombre des colonies produites par une goutte de semence avec le nombre de globules portant des spores, vraies ou fausses, que le microscope y décelait. Mais j'ai été arrêté par cette circonstance, bien connue aujourd'hui, que le rajeunissement est beaucoup moins facile sur cette gélatine nutritive que dans les milieux liquides.

Un autre fait, observé par M. Kayser, et que j'ai vérifié, s'accorde avec ceux qui précèdent. Lorsqu'on transporte dans l'eau distillée un peu de cette levure vieillie, on voit le nombre des globules à spores augmenter rapidement, si bien qu'au bout de quelques jours, il n'y a plus de place au doute. Tout cela démontre qu'il y a dans le dépôt, d'autres cellules vivantes que celles qui sont sporifères.

Reste maintenant à expliquer pourquoi cette formation de spores, nulle à l'origine, se manifeste après des mois et des années dans un liquide qui est resté tout le temps assez nutritif pour alimenter la vie des cellules sans spores. Au premier abord il semble qu'on soit très loin, dans ce cas, de ces conditions fâcheuses d'existence que nous avons vu présider à la prompt formation des spores. Mais la contradiction disparaît si on songe que les dépôts sur lesquels j'ai opéré, renfermant beaucoup de levure en présence de peu de liquide, dans lequel s'accumulaient les produits de dénutrition, et en particulier, des doses de plus en plus considérables d'acides gras volatils, devenaient un terrain de plus en plus défavorable. On obtient des spores en faisant vivre des levures au contact du lactose avec une faible quantité de matière nutritive azotée. M. Pasteur m'a même dit en avoir vu dans une levure épuisée, vivant au contact d'une solution de saccharose sur laquelle elle n'avait plus d'action. On ne peut évidemment plus alors parler d'*inanition*, ou plutôt ce n'est plus l'inanition par privation d'aliment, mais par l'impossibilité pour le malade de consommer ceux qu'on lui offre, et qui lui conviennent pourtant très bien quand il est en santé.

---



# REVUES ET ANALYSES

---

## LES MICROBES DES EAUX.

### REVUE CRITIQUE.

BURDON-SANDERSON. *Thirteenth Report*, etc., 1872. — PASTEUR et JOUBERT. *Comptes Rendus*. 1878. — MIQUEL. *Annuaire de l'observatoire de Montsouris*, 1879 et suiv. — FOL et DUNANT, *Archives des sc. phys. et naturelles de Genève*, 1884 et 1885. — DI VESTEA et TURSINI. Recherches sur les eaux de Naples 1885. — MAGGI. Eaux potables considérées comme boisson de l'homme et des animaux. *Milan* 1884. — E. MEYER. Bacteriological water-tests 1886. — CRAMER. L'alimentation d'eau de Zurich, 1885. — MEADE BOLTON. Sur la façon dont se comportent diverses espèces de bactéries dans l'eau potable. *Zeitschrift f. Hygiene*, 1886, et ces *Annales*, t. I, p. 200. — HUEPPE. *Journal f. Gasbeleuchtung und Wasserversorgung*, 1887 et 1888. — E. FAZIO, microbes des eaux minérales. *Clinica Cantani*, Naples, 1888. — LEONE. Sur les microbes des eaux potables, et leur vie dans l'acide carbonique. *Journal d'hygiène*, 1887. — HOCHSTETTER. Sur les eaux artificielles de Seltz. *Arbeiten aus d. k. Gesundheitsamte*, 1887. — WOLFHÜGEL. *Mittheilungen a. d. K. Gesundh.* — C. FRAENKEL. Recherches sur la désinfection des puits, et la richesse en germes des eaux profondes. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1889.

La question des microbes du sol, que nous avons étudiée dans le tome I<sup>er</sup> de ces Annales, se relie sur une foule de points à celle des microbes contenus dans les eaux, que de récents travaux nous permettent de traiter aujourd'hui avec quelques développements. Comme elle est très vaste, nous bornerons notre champ d'études aux parties qu'on connaît le mieux, et encore aurons-nous besoin, comme on le verra, de beaucoup de méthode et de prudence.

Les eaux qui coulent à la surface du sol proviennent, on le sait, uni-

quement des eaux météoriques. Une partie de ces eaux coule sans pénétrer dans la terre, ou ressort après avoir pénétré à une faible profondeur. Toutes ces eaux, que nous appellerons du nom commun *d'eaux de surface*, sont naturellement très riches en germes, et il n'y a rien de général à dire sur elles, sinon que leur richesse est variable et dépend de conditions dont quelques-unes au moins sont ou assez claires ou assez bien connues pour qu'il soit inutile d'insister. Une autre portion des eaux météoriques s'enfonce au contraire dans les profondeurs du sol, d'où elle ressort après un trajet et surtout un temps de séjour plus ou moins long, soit directement sous forme de sources, soit indirectement dans les pompes ou les puits.

Cette seconde portion des eaux météoriques, que nous appellerons *eaux de profondeur*, peut se dépouiller, dans son trajet souterrain, des microbes dont elle s'était chargée à son passage dans l'air ou dans les couches superficielles du sol. Il est important d'examiner tout de suite les causes qui peuvent la stériliser.

La première, la plus anciennement connue, et sans doute la plus puissante, est l'action capillaire du sol. La filtration dans les espaces capillaires retient en effet les matériaux en suspension dans l'eau et avec eux les germes de microbes. C'est un fait bien démontré, sur lequel je n'insisterai que pour essayer de préciser un peu ce qu'on appelle filtration capillaire.

Ce mot réveille l'idée des phénomènes ordinaires de capillarité, c'est-à-dire de notions qui, pour beaucoup d'esprits, sont encore nuageuses. Il importe de dire tout de suite que le caractère capillaire des méats dans lesquels circule l'eau pluviale n'a d'autre effet que d'augmenter l'effet des surfaces sur le volume d'eau qui les lèche, c'est-à-dire de multiplier les chances que peut avoir une particule solide en suspension dans l'eau de rencontrer un élément de paroi sur lequel elle se fixe, attirée par une force analogue à celle qui fixe la matière tinctoriale sur le tissu plongé dans un bain de teinture. L'effet serait le même si les chances de contact se trouvaient augmentées par une autre cause quelconque. On réussit par exemple à épuiser un bain de teinture en y agitant constamment des écheveaux de fil dont le poids est très faible par rapport au poids du liquide, avec lesquels il n'y a pas de phénomènes capillaires proprement dits, mais qui, à force de se promener dans le bain, finissent par entrer en contact avec chacun de ses éléments et le dépouiller de sa matière colorante. Il pourrait arriver, et il arrive quelquefois, de même, qu'un long repos fasse adhérer aux parois d'un vase les éléments figurés en suspension dans le liquide qui le remplit. Il peut arriver, et il arrive sans doute souvent, qu'une lente filtration au travers d'une grande longueur d'espaces non capillaires et même assez larges, produise le même résultat que la filtration

au travers d'espaces capillaires plus courts et plus étroits. C'est au moins ce qui arrive, comme je l'ai démontré, pour les sels en solution. Seulement il faut que le canal au travers duquel se fait la filtration soit d'autant plus long qu'il est plus large. Dans les espaces étroits, la surface en jeu est très grande et la vitesse faible, et c'est ce qui explique leur action puissante.

Une eau qui a traversé une grande épaisseur de terrain, qui y a séjourné (et on sait qu'il y en a qui y séjournent plus de six mois, avant d'en ressortir sous forme de sources) aura donc de grandes chances d'y être arrivée pure. C'est en effet ce qu'ont démontré nettement MM. Roux et Chamberland, et ce qui a été confirmé depuis par divers expérimentateurs. Mais tel ne sera pas toujours le cas, et il pourra très bien se faire, comme l'a constaté M. Wolfhügel, que quelques sources renferment des quantités plus ou moins grandes de microbes. Il n'y a pas contradiction entre ces faits en apparence opposés. Alors même que M. Wolfhügel aurait pris le soin, dont on ne voit pourtant guère de traces dans son mémoire, de ne s'adresser qu'à des sources profondes ne recevant aucune part d'eaux superficielles (et le meilleur caractère pour en décider est de rechercher si ces sources ne subissent pas de crue après les pluies, et conservent une température constante), il peut se faire que les diverses sources qu'il a étudiées reçoivent des eaux de terrains fissurés, au travers desquels la purification ne se fait pas. Tel sera, par exemple, fréquemment le cas dans les terrains calcaires, dans lesquels les eaux météoriques se creusent, par dissolution des parois au moyen de l'acide carbonique qu'elles contiennent, des canaux qu'elles élargissent de plus en plus, si bien qu'il finit par couler de véritables rivières sous terre. Cette possibilité de la souillure d'eaux, pourtant profondes, par des germes puisés à la surface du sol, forme le principal intérêt du mémoire que M. Thoinot a publié dans ces *Annales*, p. 145 de ce volume.

Au point où nous en sommes arrivés, nous pouvons découvrir une face du problème qui est restée, il semble, inaperçue de tous ceux qui l'ont étudié, et à laquelle je faisais allusion plus haut en parlant d'une cause de stérilisation autre que la filtration capillaire. Cette filtration peut bien nous expliquer comment les eaux *arrivent* stériles dans les profondeurs du sol : elle ne nous explique pas pourquoi elles y *restent* stériles, et peuvent en ressortir au bout de quelques mois complètement privées de germes. J'ai fait observer, en 1882, que les cloisons poreuses ne sont imperméables que pour les germes qui cherchent à les traverser, notamment par effraction, mais non pour ceux qui y cheminent lentement par voie de croissance et d'allongement, de sorte qu'avec ce que nous savons jusqu'ici, nous ne voyons aucune cause qui empêche les myriades d'espèces qu'on trouve à la surface du sol, de pénétrer peu



à peu, par voie d'envahissement graduel, les couches les plus profondes, et d'apporter la vie dans des régions où nous savons pourtant que règne la stérilité. Il faut donc qu'il y ait autre chose.

Éliminons d'abord par l'expérience une objection qu'on pourrait faire à ce raisonnement théorique. La stérilité des eaux profondes, pourrait-on dire, n'est pas nécessairement une preuve de la stérilité des terres profondes, et il se pourrait bien que celles-ci fussent peuplées sans pouvoir permettre aux microbes, grâce aux phénomènes d'attraction capillaire que vous invoquez, d'envahir les eaux qui les baignent. A cela nous avons à opposer les anciennes expériences bien connues à MM. Pasteur et Joubert sur la craie de Meudon, et les expériences plus nouvelles, et plus curieuses à divers points de vue, de M. Fraenkel dont nous avons parlé page 496 du tome I<sup>er</sup> de ces *Annales*. Les réserves que nous avons faites à leur sujet laissent debout ce fait surprenant de la stérilité sinon absolue, du moins relative d'une couche située à trois mètres de profondeur dans le sous-sol de l'Institut de Berlin, construit dans la vieille ville et à quelques centaines de mètres du fleuve, c'est-à-dire sur un point où la souillure du sol semblerait devoir être complète. .

A quoi donc attribuer cette stérilité persistante des couches profondes? On a d'abord invoqué l'action de la température, et M. Fraenkel a démontré que celle qu'on rencontre en été à deux ou trois mètres de profondeur est un obstacle absolu à la croissance des bacilles du typhus et du choléra. Mais il y a des organismes moins sensibles, il y en a même beaucoup, et Fischer nous en a montré un qui se cultive à 0°. Rien ne nous dit d'ailleurs que les microbes les plus sensibles n'aient pas une sensibilité artificielle, dépendante des conditions d'hérédité, et ne puissent arriver à se plier peu à peu à ce séjour à basse température. En somme, cette influence de la chaleur ne suffit pas à expliquer qu'aucun microbe n'arrive à pénétrer dans les profondeurs du sol.

Nous ne réussirons pas mieux en invoquant l'absence de nourriture. Depuis longtemps on sait que les microbes peuvent se multiplier dans les eaux en apparence les plus pauvres, d'abord parce que dans toutes il y a un peu de matière organique, puis parce que les microbes ont une telle puissance de développement que l'absence de nourriture les gêne peu, comme M. Pasteur l'a montré le premier pour la levure; ils vivent sur leurs propres tissus et prolifèrent encore, avec plus de lenteur, il vrai, que lorsqu'ils sont bien fournis de matière alimentaire.

Une cause plus puissante est, il semble, l'absence d'oxygène qui se fait est de plus en plus rare à mesure qu'on s'enfonce dans les profondeurs du sol. A ce point de vue la terre peut être assimilée à une masse de vin recouverte d'une couche continue de mycoderma vini, qui

ne laisse se répandre dans les profondeurs que de l'acide carbonique. Or ce gaz, produit vital du plus grand nombre sinon de la totalité des microbes, ne saurait impunément être mis à leur contact, et c'est en effet ce que démontrent diverses expériences, entre autres celles de Leone faites à Munich, dans le laboratoire de Pettenkofer. En cherchant, par la méthode des cultures sur plaques, ce que devenaient avec le temps les microbes contenus dans les eaux de Munich abandonnées à elles-mêmes, et dans ces mêmes eaux chargées industriellement d'acide carbonique, Léone a trouvé les nombres suivants : L'eau de Munich qui renfermait à l'origine 115 microbes par centimètre cube, en contenait 10,500 au bout de 48 heures et 500,000 après 5 jours. Au bout de ce même intervalle de 5 jours, la richesse en germes de la même eau transformée en eau gazeuse était tombée de 186 microbes à 87. Elle était descendue à 25 au bout de 15 jours. Ce n'est pas la pression de l'acide carbonique dans les siphons qui amène ce résultat, car on le retrouve avec de l'eau dans laquelle on a fait simplement barboter un courant d'acide carbonique; et ce gaz a une action spécifique, car quand on le remplace par un courant d'hydrogène, au lieu d'une diminution dans le nombre des germes, on a une multiplication rapide. Meade-Bolton est arrivé à peu près simultanément aux mêmes conclusions.

Il est vrai que les expériences de M. Hochstetter, faites à Berlin, sont contradictoires des conclusions qui précèdent. Ce savant n'a pu constater aucune diminution dans le nombre des germes contenus dans de l'eau distillée soumise à un courant d'acide carbonique. Mais voilà plusieurs fois que dans ces *Annales* nous refusons tout caractère contradictoire à des faits qui n'ont pas été observés dans les mêmes conditions. Hochstetter est bien de cet avis, et admet qu'il peut y avoir des bactéries qui résistent mieux que d'autres à l'action de l'acide carbonique. Pour éprouver la justesse de cette manière de voir, il sème des cultures pures de bactéries dans de l'eau de Seltz artificielle, et constate que le plus grand nombre des espèces y meurt au bout de périodes variables, qui oscillent entre quelques heures et un mois et plus. Les bactéries du typhus sont restées vivantes 5 jours, celles du choléra seulement 3 heures, tandis qu'elles supportaient 392 jours de séjour dans l'eau naturelle.

Notons en passant que tous ces résultats sont en contradiction apparente avec ce que j'ai vu dans mes études sur les meilleures conditions de conservation des microbes, car ma conclusion est que c'est à l'abri de l'oxygène et en présence de l'acide carbonique que leur vitalité est la mieux assurée. Mais encore une fois, il n'y a pas contradiction entre les faits. J'opérais sur des microbes réduits à l'état de spores et plongés dans un liquide encore nutritif, au lieu d'opérer

sur des microbes en libre développement dans l'eau. De plus mes conclusions ne sont pas générales, car j'ai précisément signalé, à propos des levures, qu'elles se conservent beaucoup mieux en présence de l'oxygène qu'au contact de l'acide carbonique.

Si nous revenons maintenant à l'explication du maintien de la stérilité dans les couches profondes du sol, nous voyons que sans pouvoir affirmer que nous la tenons tout entière, nous en avons au moins quelques éléments. Toutes les causes que nous avons signalées agissent peut-être ensemble, et il n'est pas du tout prudent, en général, de conclure de l'unité d'effet à l'unité de cause.

Toutes les conclusions qui précèdent ne s'appliquent qu'aux êtres aérobies, parce que c'est sur eux qu'a uniquement porté l'expérience. Il y aurait un autre travail à faire à propos des anaérobies, travail plus difficile, plus délicat, et qui n'est encore qu'ébauché. Nous le laisserons de côté et nous résumerons toutes les notions que nous venons d'acquérir dans cette phrase simple : les eaux profondes *doivent* le plus souvent être privées de germes d'êtres aérobies.

Voyons maintenant ce qu'elles deviennent. Elles coulent, comme on sait, dans les profondeurs, d'un mouvement lent et uniforme, suivant les lignes de plus grande pente des couches imperméables qui les retiennent, et finissent par ressortir partiellement soit sous forme de sources vives, soit dans des puits d'où on les retire par divers moyens.

Dans tous ces cas, l'eau vient au contact de l'air, parfois de la lumière, et les conditions qui maintenaient la stérilité disparaissent. Voyons comment se fait leur réinvasion.

Les eaux de source sont en apparence au moins les mieux protégées. Quand elles jaillissent par un griffon bien souterrain, pratiqué dans une roche imperméable aux racines des plantes, et qu'elles sont bien protégées contre le mélange avec des eaux de surface, elles apporteront à la surface du sol une pureté absolue qu'elles perdront à courte distance par suite des apports incessants de l'air, du sol, et des animaux qui viennent les habiter. Sous ce point de vue les eaux de la Vanne fournissent un exemple très remarquable. On a suivi dans les profondeurs du sol, à l'aide de travaux aussi hardis qu'économiques, quelques-unes des sources qui alimentaient cette rivière, afin d'en augmenter le volume, et on peut en effet aborder leurs griffons par des souterrains étroits, dans lesquels il n'y a place sur le sol que pour une étroite banquette où circule le visiteur, et qui est bordée par la rigole où coule la source. En prenant l'eau au griffon de la plupart de ces sources, on la trouve absolument pure, mais à quelque distance, même dans ces souterrains profonds, elle est déjà contaminée soit par le voisinage de la banquette dans laquelle on circule pourtant rarement, soit par les insectes qu'aucune fermeture n'empêche d'aller chercher



suivant la saison, la chaleur ou la fraîcheur dans ces souterrains à température constante.

Ces causes de peuplement sont incessantes, et par conséquent le peuplement incessant aussi. Cette considération nous empêche d'entrer pour le moment dans l'examen d'une question qui a été très étudiée et très controversée jusqu'ici, la durée de vie dans l'eau de germes qu'on y a une fois introduits. Nous la laissons d'autant plus volontiers de côté que notre conclusion serait qu'elle n'est pas mûre, et que les résultats contradictoires auxquels sont arrivés, à son sujet, divers savants, tiennent sans doute à ce que leurs eaux ou leurs conditions d'expérience ne se ressemblaient pas.

Il résulte de ces conditions de peuplement une autre conséquence que l'expérience vérifie d'une façon plus nette. Parmi les germes très variés qui ont pu lui arriver dans la suite des temps, chaque eau de source, qui n'en peut nourrir qu'un petit nombre, aura pu choisir l'espèce ou les espèces qui lui conviennent le mieux, suivant sa constitution chimique, sa température, son état d'aération, etc. C'est évidemment à des raisons de cette nature qu'il faut attribuer la population, très étroite comme espèces, des eaux sulfureuses, telle qu'elle a été récemment étudiée par M. Winogradsky <sup>1</sup>. Dans un autre travail intéressant sur les microbes des eaux minérales des environs de Naples, M. Fazio a trouvé d'une façon constante, dans une eau ferrugineuse de Castellamare, dite *Acqua rossa*, un bacille, le *B. ochraceus*, qu'il considère comme caractéristique de cette eau et qui prédomine de beaucoup sur les autres espèces mélangées avec lui. Ces espèces sont d'ailleurs en petit nombre. Ce sont le *B. liquefaciens*, qui existe dans beaucoup d'eaux potables, le *Micrococcus candidans* ou *candidus*, et une bactérie colorée qui lui a paru être le *Bacterium chlorinum* de Engelmann, ou *Bacillus virens* de Van Tieghem. De même, dans une eau voisine, l'*Acqua del Mulino*, il a trouvé comme espèces prédominantes, le *B. ochraceus* et le *Micrococcus candidans*. Il y a en outre une troisième espèce banale. Ce *Micrococcus candidans* se retrouve dans deux autres eaux alcalines de la région, mais cette fois mélangé à d'autres espèces. Voilà un exemple des ressemblances et des différences qui peuvent exister dans un même groupe de sources, différences à cause des différences de composition des eaux, ressemblances par suite de leur voisinage.

Ce serait ici le moment de discuter le caractère spécifique des microbes qui habitent ces diverses eaux. La question a été étudiée pour les eaux minérales, dont on a cherché à lier les propriétés curatives à celles des microbes qui les habitent. Mais je ne sais aucune

1. Voir ce volume, page 49.

tentative qui ait abouti. C'est que le problème est difficile à aborder. Il semble qu'il ait deux faces qu'on ne saurait confondre. La première est la suivante. La constitution chimique des eaux minérales à leur sortie du griffon est-elle, en quelque mesure que ce soit, le résultat de l'action des microbes dans les profondeurs du sol, ou plus généralement le résultat d'une action vivante, incessante comme la vie, et capable d'expliquer le maintien pendant de longs siècles des propriétés générales d'une eau minérale ? ou bien cette eau emprunte-t-elle uniquement ses propriétés à des réactions chimiques ? Voilà la première face de la question. Voici la seconde. Les microbes qui habitent ces eaux à leur sortie du griffon, et qui ne sont pas nécessairement les mêmes que les microbes hypothétiques qui les ont produites, peuvent-ils agir sur le baigneur ou le buveur d'eau de façon à donner à ses fonctions générales ou à sa digestion une allure nouvelle ? Il serait bien imprudent de répondre d'avance non, à ces deux questions ; il serait encore plus imprudent d'y répondre oui, sur le vu des documents imparfaits que la science possède en ce moment sur ce point.

J'ai du reste hâte d'arriver à l'étude des puits, au sujet desquels vient de paraître un bon travail de M. C. Fraenkel. Je ne suivrai ni dans son ordre général, ni dans tous ses détails, ce travail, fait à un tout autre point de vue que celui de cette revue critique ; mais j'y prendrai, au fur et à mesure, ce qui me sera nécessaire pour l'ordre logique de mon exposé. Disons tout de suite que M. Fraenkel signale avec raison, après M. Koch, les différences profondes qui séparent au point de vue hygiénique les puits maçonnés et ouverts à l'air, de ceux qui sont formés uniquement par le tube plongeant de la pompe alimentaire. Dans les premiers, alors même qu'ils sont clos à leur partie supérieure, alors même qu'ils sont voûtés, la maçonnerie, à laquelle on ne peut donner de bases solides, et qui repose nécessairement sur un sol imprégné d'eau, finit par jouer dans toute sa hauteur, et par faire du puits un appareil de drainage pour toute la région du sol avoisinante. Comme c'est près du puits qu'on lave le linge, comme le puits est toujours voisin des bâtiments d'habitation ou d'exploitation, son fond finit par se couvrir d'une couche de boue chargée de matières organiques. A plus forte raison s'il est découvert, et s'il peut recevoir ainsi des cadavres d'insectes ou d'animaux, ou des feuilles mortes. Tout puits, si hermétiquement clos qu'il soit, est d'ailleurs envahi par la végétation, et le résultat de toute végétation est nécessairement un fumier. Quand on se rappelle les quantités considérables de matière organique que M. Boussingault a signalées dans certains puits de Paris, on n'a pas de peine à comprendre que M. Fraenkel ait trouvé un cloaque au fond des puits de l'Institut d'hygiène de Berlin, et ait échoué dans ses efforts pour les désinfecter.

Tout autres sont les conditions d'un tuyau de pompe aspirante pénétrant dans le sol, venant plonger au fond dans une cuvette de dimensions réduites, mais maintenu et protégé au-dessus par le sol bien tassé autour de lui. La couche aquifère dans laquelle il plonge n'a alors presque rien à redouter des eaux de surface, qui ne l'abordent qu'après une filtration plus ou moins longue, analogue, autour du tuyau, à celle qu'elles subissent à une certaine distance du puits, et il semble au premier abord, que si la couche aquifère est stérile, la pompe devra débiter constamment de l'eau stérile aussi. Comme l'eau réunie dans la cuvette du fond du puits est dans une certaine mesure de l'eau exposée à l'air, il est difficile d'espérer qu'elle sera toujours stérile, mais on peut penser au moins qu'après l'avoir évacuée, et lavé la cuvette par un jeu prolongé de la pompe, on finira par avoir de l'eau privée de germes.

En opérant sur une pompe installée depuis 2 ans et demi dans une cour de l'Institut hygiénique de Berlin, et dans laquelle la surface de l'eau dans la cuvette était à 4<sup>m</sup>,48 au-dessous de la surface du sol, M. Fraenkel a vu la richesse en germes de l'eau extraite tomber de 10,800 germes par centimètre cube, chiffre d'origine, à 54, chiffre correspondant au 500<sup>e</sup> litre extrait. En poussant au millième litre, le chiffre ne tombait pas beaucoup plus bas, et pourtant, comme le volume de la cuvette n'était que de 5 litres environ, le volume d'eau extraite représentait environ 200 fois le volume d'eau primitivement contenu dans la cuvette.

Il y a plus; en recommençant le lendemain, on trouvait que le chiffre des germes avait beaucoup monté dans la nuit, absolument comme s'il s'était produit une multiplication abondante des germes laissés dans l'eau. Cette multiplication lui paraissant anormale, M. Fraenkel a mieux aimé accuser les dépôts adhérents que les microbes de l'eau avaient pu laisser le long des parois du tube ou du sol de la cuvette, dépôts qui, maintenus par l'affinité capillaire, ne rentrent que lentement en suspension dans l'eau. L'expérience a vérifié cette induction. Après avoir nettoyé soigneusement l'intérieur du tube d'aspiration, on y a versé 12 litres d'un mélange d'acide phénique brut et d'acide sulfurique suivant les formules du Dr Laplace. Au bout de 2 heures on a amorcé la pompe, et laissé le tout jusqu'au lendemain. Au bout de 24 heures, les premières portions d'eau extraites présentaient l'odeur et les réactions de l'acide phénique; les dernières ne donnaient aucune trace de la présence de ce corps, et les premières comme les dernières étaient tout à fait stériles. Cette stérilité a persisté 7 jours, après quoi elle a disparu.

On pourrait arguer qu'elle était due non pas à ce que les germes étaient absents, mais à ce que la présence de l'acide phénique, bien



qu'en quantités inappréciables, les empêchait de se développer. Mais cette même eau stérile nourrissait et laissait se multiplier fort bien les germes qu'on y ensemait. On peut d'ailleurs, quand après une première stérilisation à l'acide phénique les bactéries ont complètement disparu, les diminuer à nouveau, quand elles reparaissent après quelques jours, par un simple nettoyage mécanique du tube. Concluons donc, avec M. Fraenkel, que le réensemencement de l'eau se fait par la pompe, par la chute d'un grain de poussière au travers des soupapes, ou l'écoulement d'une goutte d'eau contaminée le long du tube, mais que la couche aquifère où s'alimente ce puits est stérile.

Il en a été de même pour un autre puits de l'Institut d'hygiène, placé dans de meilleures conditions hygiéniques que le précédent, moins entouré de causes de contamination, et qui servait plus souvent, le premier étant presque abandonné. Ce fait est d'autant plus remarquable que ces deux puits sont très peu profonds, qu'ils sont creusés dans la vieille ville, dans un sol qui porte des habitations depuis de longues années. Ces résultats sont du reste parfaitement d'accord, comme nous l'avons fait remarquer plus haut, avec ce que les études de M. Fraenkel lui avaient appris sur la stérilité du sol de Berlin à de faibles profondeurs.

A la proposition que nous avons énoncée plus haut au sujet de la stérilité des eaux profondes, nous pouvons donc joindre maintenant celle-ci : il suffit que ces eaux profondes apparaissent au contact de l'air ou au contact de corps qui subissent l'action de l'air, pour que leur stérilité disparaisse. Les voies par lesquelles les germes arrivent sont insaisissables, très souvent imprévues, et presque toujours impossibles à tenir closes. Les eaux de la Vanne sont, par exemple, amenées à Paris par une conduite fermée, métallique ou cimentée sur toute son étendue. Il a fallu y laisser, de distance en distance, des portes pour les réparations. Ces portes sont en fer, jointent bien et sont toujours closes. Elles n'en livrent pas moins passage pendant l'hiver à des insectes ou à des vers qui vont chercher de la chaleur dans le tunnel, et dont les cadavres finissent par tomber dans l'eau. Voilà une source toujours ouverte de germes de microbes et d'aliments pour les germes de microbes.

Mais n'oublions pas non plus qu'au point de vue hygiénique, la qualité des germes a une bien autre influence que leur quantité. Une eau peut être très riche en germes et être relativement saine, une autre eau très pauvre et relativement dangereuse, et puisque nous sommes amenés à parler de cette question, nous devons dire à son sujet toute notre pensée, qui est celle-ci : c'est se leurrer soi-même et leurrer le public que de prendre ou de donner le nombre des germes présents dans une eau pour unique mesure de sa valeur hygiénique.

Il faut de plus, ce premier point admis, pousser bien loin la foi dogmatique pour fixer cette valeur par un chiffre, et dire, par exemple, comme on commence à le faire, qu'une eau est pure quand elle contient moins de 300 germes par centimètre cube. Une eau est pure quand elle est pure, c'est-à-dire quand elle ne contient pas de germes du tout. Si dans les laboratoires nous faisons parfois des numérations, ce n'est pas pour faire des fétiches des chiffres trouvés, c'est pour recueillir des faits et y puiser des idées, suivant la formule de Buffon. Mais nous n'avons jamais songé à considérer comme inoffensifs les germes qui sont au-dessous de 300, comme dangereux ceux qui dépassent ce chiffre. Pour juger de la valeur d'une eau, il faut faire entrer en ligne de compte les conditions du captage, la nature géologique du sol d'où elle sort, la nature des surfaces, les chances de contamination dans le trajet, les conditions d'impureté à la sortie, bref l'ensemble de notions que nous avons essayé de résumer dans cet article. Nous nous défierons davantage d'une eau qui reçoit une minime quantité de matières excrémentielles que d'une eau qui sera chargée de germes pour avoir lavé une région déserte. Cette question de la *nature* des germes est trop importante pour que nous songions à l'aborder à la fin de cette revue déjà longue, dans laquelle nous n'avons voulu étudier que la question de *quantité*. Mais en attendant qu'on ait trouvé le moyen de caractériser dans une eau les germes nuisibles ou pathogènes qu'elle contient, et trouvé dans cette méthode une mesure de leur degré de nocuité, nous professerons que les seules eaux recommandables sont celles qui ne contiennent pas de germes du tout.

C'est l'affaire des hygiénistes de s'emparer de cette conclusion, et de tâcher de la faire passer dans la pratique. Qu'ils nous recommandent pour cela la filtration, le chauffage, qu'ils préconisent tels ou tels appareils, qu'ils nous donnent, comme vient de le faire très bien M. Hueppe dans un article que nous avons visé dans l'en-tête de cette revue, les meilleurs conseils pour l'aménagement de nos fontaines et de nos puits, ils seront dans leur rôle et le public leur en sera reconnaissant. Mais il faut leur dénier le droit de chercher entre les indications formelles de la science et les nécessités de la pratique une transaction qui rappelle un peu le fameux mariage de la carpe et du lapin, et qui risque, après avoir mécontenté la science, de ne pas satisfaire l'hygiène.

Dx.

---

R. UHLIG. Recherches sur la nourriture des nourrissons malades au moyen de lait stérilisé (méthode de Soxhlet). *Jahrbuch f. Kinderheilkunde*, t. XXX, p. 83.

On sait la mortalité considérable qui frappe pendant l'été les nourrissons qui ne sont pas nourris au sein, et qui sont soumis à l'usage du biberon ou de l'alimentation artificielle. Pour la combattre, on a proposé un très grand nombre de méthodes diététiques ou de formules thérapeutiques. Une des plus curieuses est celles du professeur Epstein, de Prague, qui commence par un lavage de l'estomac, et continue en ne faisant avaler au nourrisson que du lait stérile, conservé par exemple par la méthode de Soxhlet, dont j'ai donné récemment la description. (V. t. III, p. 30.)

Rien ne démontre à coup sûr, *a priori*, que les microbes présents dans le lait ne rendent la digestion difficile pour les nourrissons, et amènent des maladies du canal digestif. Tous ceux de ces microbes que nous connaissons bien ont l'air très inoffensif, ou, du moins, aucun n'est pathogène dans le sens accordé jusqu'ici à ce mot, c'est-à-dire n'amène de maladie sérieuse quand il est inoculé sous la peau, ou introduit dans les voies digestives. Mais n'oublions pas que le canal digestif des nourrissons est particulièrement sensible, qu'il supporte par exemple difficilement la présence de certains acides. On comprend à la rigueur que ce même lait, peuplé de microbes, qu'un adulte consommait impunément, puisse amener dans l'estomac du nourrisson des fermentations qui le rendent indigeste, ou y produisent des diastases que la muqueuse jeune n'est pas préparée à supporter. On comprend aussi que les produits toxiques variés qui accompagnent presque toujours la vie des microbes puissent exercer une action puissante sur un organisme jeune et débile. En tout cas, il était intéressant de rechercher par l'expérience le résultat de ce mode d'alimentation, et c'est ce qui a été fait de divers côtés.

Il y avait pour cela divers moyens. Le plus topique eût été bien certainement de réunir en deux lots des enfants bien portants du même âge, et à essayer sur le premier lot l'effet du biberon ordinaire, sur le second celui du lait stérilisé. En prolongeant l'expérience assez longtemps pour qu'elle donne un résultat, pas assez longtemps pour qu'elle puisse tourner au détriment de l'un des lots, on aurait pu, au moyen de pesées successives, et en tenant soigneusement compte des indispositions si fréquentes au jeune âge, se faire une idée précise de la valeur comparée de ces deux modes de nutrition. Cette méthode a déjà été suivie dans des recherches sur l'alimentation des animaux;



c'est évidemment la meilleure, mais elle présente sans doute des difficultés d'application, car je ne sache pas qu'elle ait été employée nulle part. La plupart des observateurs ont supprimé, pour des raisons d'humanité ou d'économie, le lot comparatif, ont servi indistinctement le lait stérilisé à tous leurs bébés, et ont essayé d'apprécier les résultats de ce mode d'alimentation, soit simplement à l'œil, soit en appréciant par la méthode des moyennes les progrès faits par leurs nourrissons.

Comme ils ont presque tous opéré dans des hôpitaux, l'expérience a en outre présenté la circonstance aggravante d'être faite sur des enfants malades, ce qui ajoute à la difficulté d'interpréter ses résultats. Mais on a toujours pu en tirer néanmoins des conclusions favorables à ce mode de nutrition, comme on va le voir par le récit de celles que M. Uhlig a faites à la Polyclinique de Leipzig, sous la direction de M. le professeur Heubner.

Ici l'expérience a porté, du commencement de mai au commencement d'août 1887, sur 39 enfants (21 garçons et 18 fillettes), dont 12 souffraient de dyspepsie aiguë avec diarrhée dyspeptique, 20 de dyspepsie chronique avec troubles de la nutrition, 7 de choléra infantile. La plupart d'entre eux étaient malades depuis longtemps, et leur poids moyen n'atteignait pas la moitié du poids moyen de leur âge. Le lait qu'on leur a servi dès le commencement des expériences, une fois le lavage de l'estomac fait avec une solution tiède et faible de sel marin ou de résorcine, était, pour les enfants au-dessus de 4 mois, du lait commercial de bonne qualité. Pour les enfants au-dessous de cet âge, on étendait le lait de moitié d'eau, et on y ajoutait 30 grammes de sucre de lait par litre, de façon à lui donner le plus de ressemblance possible avec le lait de femme. Chacun de ces enfants avait en moyenne par jour à sa disposition un demi-litre de lait, réparti dans des flacons stérilisés de 150 grammes, dont il suffisait d'enlever le bouchon, qu'on remplaçait par un caoutchouc pour en faire des biberons.

Voici maintenant les résultats de l'expérience. Sur les 39 enfants, il en est mort 4 de maladies intercurrentes (pneumonie, scarlatine?), n'ayant, en apparence au moins, aucune relation avec la maladie du canal digestif. Restent 35 enfants, sur lesquels il y a eu 7 morts; c'est une mortalité de 20 pour cent, très inférieure à la mortalité infantile moyenne, qu'Henoch porte, avec quelque exagération, il semble, au chiffre de 80 pour cent. Mais en prenant le chiffre de Varrentrapp, à Francfort, qui est de 49 pour cent environ, on voit, dit M. Uhlig, que l'avantage du lait stérile est encore manifeste.

La conclusion serait un peu caduque si elle ne reposait que sur cette base; qui dit mortalité dit en effet quelque chose d'extrêmement contingent, et je suis toujours surpris de la facilité avec laquelle les mémoires médicaux tablent sur cette donnée. Si quelqu'un venait nous

dire : en soufflant en l'air, j'empêche la pluie de tomber, et s'il prétendait le prouver en comparant la moyenne de la pluie pendant la quinzaine où il a réellement soufflé en l'air, à la quinzaine précédente dans la même ville ou dans la ville voisine, ou à la quinzaine de l'année précédente, ou à la moyenne des quinzaines depuis le commencement du siècle, on lui rirait au nez. Je consens à reconnaître les différences de ce raisonnement avec ceux qu'on nous sert quelquefois, si on veut reconnaître les ressemblances.

Heureusement M. Uhlig a d'autres arguments. En évaluant les augmentations de poids de ses nourrissons, et en les comparant aux moyennes des divers âges, il a vu que 41 pour cent avaient une augmentation normale, comme s'ils avaient été bien portants; 15 pour cent avaient une augmentation plus faible, mais encore sensible; 5 pour cent sont restés stationnaires; 23 pour cent n'ont manifesté aucune amélioration apparente, enfin 15 pour cent seulement ont diminué de poids, ce qui est évidemment un très bon résultat pour des enfants très malades au moment où les expériences ont commencé. Un examen plus détaillé des histoires individuelles confirme ce résultat général, et M. Uhlig ajoute, pour terminer, que ce mode de traitement est très économique.

L'emploi de ce lait stérilisé se recommande donc par divers avantages, mais je crois devoir faire remarquer, avant de terminer, que rien ne nous dit encore, d'une façon précise, à quoi tiennent ces avantages. C'est un peu arbitrairement, et en vertu d'une idée préconçue, qu'on les rattache à l'absence de microbes dans le lait consommé. Si cette absence devait durer tout le long du canal intestinal, il n'y aurait rien à dire. Ce que nous savons sur la digestion nous autorise à croire qu'elle s'accomplirait tout autrement à l'abri des microbes et en présence des sucs normaux de l'organisme, qu'elle ne le fait lorsqu'elle est soumise à la fois à ces deux influences. Mais si le lait entre dans la bouche privé de microbes, il en rencontre dans tout son trajet. Le lavage initial auquel on soumet l'estomac des nourrissons n'a certainement pas pour effet d'y tuer tous les germes; l'antisepsie des tissus est autrement difficile que cela. D'ailleurs, les détruirait-on au début que la réinvasion serait des plus faciles. Que se passe-t-il donc? Est-ce une question de quantité de microbes, dont le nombre diminuerait peu à peu par suite de l'arrivée régulière dans l'estomac de lait stérile, ou faiblement peuplé par son passage sur la langue et dans la bouche? Est-ce au contraire une question de qualité, les microbes qui habitent l'estomac ayant un caractère plus inoffensif que ceux qui peuvent, dans le lait, provenir du pis de la vache ou des contacts divers auxquels ce liquide est exposé? On ne le sait, et on voit pourtant que ces questions, faciles à étudier, seraient utiles à résoudre pour qu'on ait le

droit d'attribuer à l'absence de microbes les avantages indéniables du lait stérilisé.

A quoi les attribuer en dehors des questions de microbes ? dira-t-on peut-être. Voici. Le lait chauffé ne doit pas se comporter dans les organes digestifs comme le lait naturel. Sa caséine est dans un état physique différent, et ne se coagule pas absolument de même ; c'est ce dont l'industrie laitière s'est depuis longtemps aperçue. Rien ne prouve qu'il n'y ait pas des différences analogues en ce qui concerne la digestibilité. Que les grumeaux de caillé soient plus gros ou plus fins, plus cohérents ou plus gélatineux, ils résisteront plus ou moins, et séjourneront plus longtemps dans l'estomac avant de traverser le pyllore. Ce qui peut servir d'argument en faveur de cette idée, c'est qu'on a trouvé utile d'étendre d'eau le lait de vache avant de le faire servir à l'alimentation des enfants. Or la dilution amène une plus grande division des grumeaux, et agit dans le même sens que le chauffage. En tout cas, on voit que la question n'est pas résolue à l'avance, et c'est pour cela que j'ai pensé à la poser, dans l'espoir qu'elle tentera quelque observateur en situation de l'étudier et de la résoudre.

Dx.

---



# STATISTIQUE DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE A LA STATION DE TIFLIS (CAUCASE),

DU 1/15 JUILLET 1888 AU 1/13 AVRIL 1889.

Directeur : M. Chljactin, inspecteur de l'administration médicale au Caucase.

	A			B			C		
Morsures à la tête { simples.....	»	1	2	»	»	1	»	»	»
et à la figure { multiples....	»	1		»	1		»	»	»
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces.....	1	»	»	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation.....	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Morsures aux mains { simples.....	»	5	6	»	2	3	»	2	1
multiples....	3	1		»	1	3	»	2	
Cautérisations efficaces.....	4	»	»	1	»	»	1	»	»
— inefficaces.....	»	»	»	1	»	»	2	»	»
Pas de cautérisation.....	5	»	»	1	»	»	1	»	»
Morsures aux mem- { simples.....	»	»	»	»	4	7	»	10	16
bres et au tronc { multiples....	»	7	7	»	3	7	»	6	
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»	1	»	»
— inefficaces.....	»	»	»	»	6	»	9	»	»
Pas de cautérisation.....	7	»	»	1	»	»	6	»	»
Habits déchirés.....	5	»	»	5	»	»	14	»	»
Morsures à nu.....	2	»	»	1	»	»	2	»	»
Morsures multiples en divers points du corps.....	»	»	»	»	»	»	»	3	3
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation.....	»	»	»	»	»	»	3	»	»
Habits déchirés.....	»	»	»	»	»	»	3	»	»
Morsures à nu.....	»	»	»	»	»	»	3	»	»
Total.....	15			11			23		
	A			B			C		
TOTAL GÉNÉRAL.....	49								

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 45 fois; loup, 1 fois; cheval, 1 fois; chat, 2 fois.

Il n'y a pas eu de cas de mort.

Les inoculations, commencées par les moelles de 16, 15, ou 12 jours, n'ont été poussées que jusqu'à la moelle de 4 jours.

## INSTITUT PASTEUR

*Personnes traitées mortes de la rage.*

RASCOT (Pierre), 52 ans, facteur à Murat (Tarn), mordu le 28 février 1889, à la cuisse droite, au-dessous de la fesse. Le pantalon a été déchiré et on constate deux blessures qui ont donné du sang. Elles ont été cautérisées à l'alcali, 36 heures après avoir été faites.

Le chien mordeur a été reconnu enragé par M. Pastre, vétérinaire. Un cheval mordu par le même chien a présenté des symptômes de rage et a succombé le 11 avril.

Rascot a été traité du 9 au 23 mars (Traitement commencé 9 jours après la morsure). Le 9 et le 10 avril, après un travail excessif, Rascot prit froid. Le lendemain il a éprouvé un grand mal de tête et une grande lassitude. Le 12 avril, il éprouve de la difficulté à avaler les liquides et a de la parésie des bras et des jambes; il meurt le 14 avril avec des phénomènes d'asphyxie. Ces renseignements ont été communiqués par le Dr Rascot, de Murat, qui a vu le malade. L'observation n'a été envoyée à l'Institut Pasteur que le 25 septembre 1889.

MANUEL (Jose), 6 ans, de Asteazu-Guipuscoa (Espagne), mordu le 30 juin 1889; 1° au milieu de la joue gauche; 2° à la paupière inférieure à l'angle externe, cette blessure est pénétrante; 3° à la tempe gauche. Ces morsures ont saigné. Une heure après, elles ont été lavées avec un liquide qui n'a laissé aucune trace de cautérisation.

Le chien mordeur a été reconnu enragé par M. Aldasson, vétérinaire à Tolosa.

Manuel a été traité du 9 au 28 juillet (traitement commencé 9 jours après la morsure). Il a été pris de la rage le 21 août et est mort le 24 août. Le malade a été observé par le Dr Irigoyen.



## INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE <sup>1</sup> DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — SEPTEMBRE 1889.

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples.....	»	»	»	4	»	»
et à la figure { multiples....	»	1	»	3	»	»
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»
— inefficaces.....	»	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation.....	1	»	3	»	»	»
Morsures aux mains { simples.....	»	7	»	12	»	4
{ multiples....	»	5	»	30	»	5
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	2	»	2
— inefficaces.....	7	»	23	»	6	»
Pas de cautérisation.....	5	»	17	»	1	»
Morsures aux mem- { simples.....	»	1	»	7	»	3
bres et au tronc { multiples....	»	1	»	21	»	4
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	5	»	»
— inefficaces.....	2	»	11	»	5	»
Pas de cautérisation.....	»	»	12	»	2	»
Habits déchirés.....	2	»	22	»	7	»
Morsures à nu.....	»	»	6	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps.....	»	»	»	3	3	»
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»
— inefficaces.....	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation.....	»	»	3	»	»	»
Habits déchirés.....	»	»	3	»	»	»
Morsures à nu.....	»	»	3	»	»	»
Totaux. { Français et Algériens ..	»	11	»	63	»	12
{ Etrangers.....	»	4	»	17	»	4
	A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL.....					111	

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 103 fois; chats, 4 fois; vaches, 2 fois; bœuf, 1 fois; porc, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux: — Imprimerie Charaire et fils.